Digitized by the Internet Archive
in 2025

https://archive.org/details/archives-de-institut-de-botanique_1940-1945_17

UNIVERSITY OF ARIZONA
LIBRARY

UNIVERSITE DE LIEGE
BELGIQUE

VOL. 17. 1940 - 1945.

ARCHIVES
DE
L'INSTITUT DE BOTANIQUE

sous la direction
du Professeur Ray. BOUILLENNE

---

1. Ray. BOUILLENNE : Les hormones végétales.
2. P. PREVOT : Les facteurs de la morphogénèse des bourgeons de néoformation chez « Begonia Rex ».
3. L. DELARGE : Etude de la croissance et de la ramification des racines **in vitro.**
4. J. MOUREAU : Rhizogénèse chez **Coleus** sous l'influence de l'hétéroauxine. Histologie et physiologie du phénomène.
5. R. BOUILLENNE, J. de ROUBAIX et O. LAZAR : Action des hormones sur la croissance de la betterave sucrière.
6. A. WILLAM : Recherches sur l'aquiculture de la betterave sucrière.
7. M. BOUILLENNE-WALRAND : Action de l'hétéroauxine appliquée aux grains de **Zea Maïs** sur le rendement en épis.
8. M. BOUILLENNE-WALRAND : Action de l'hétéroauxine sur la respiration des plantules de **Zea Maïs.**
9. A. WILLAM : La saccharogénie de la Betterave.
10. Ray. BOUILLENNE : Altérations dans les tourbières de Haute-Belgique en rapport avec les plantations de résineux.
11. M. BOUILLENNE-WALRAND et F. DARIMONT : L'habitat antique sur le plateau de la Baraque Michel.
12. F. DARIMONT : Un groupement à « Cirsium palustris » et « Angelica silvestris » sur le plateau des Hautes-Fagnes.
13. L. DELARGE : Variation du pH des eaux des tourbières de la Baraque Michel sous l'influence de la pluie et de la sécheresse.
14. M. FOUARGE : Note sur le « Sphagnum » du plateau de la Baraque Michel.
15. A. MARECHAL : Coup d'œil écologique et phytosociologique sur la pointe extrême du Condroz, située aux portes de Liége.
16. Ray. BOUILLENNE : Ne compromettons pas l'équilibre des forces naturelles. Le sol, les réserves d'eau et la végétation.

580.6
71
17
940-45

Editions L'HORIZON NOUVEAU
LIEGE
1946

ARCHIVES

DE

L'INSTITUT DE BOTANIQUE

DE

L'UNIVERSITE DE LIEGE

UNIVERSITE DE LIEGE
BELGIQUE

VOL. 17. 1940 - 1945.

ARCHIVES
DE
L'INSTITUT DE BOTANIQUE

sous la direction
du Professeur Ray. BOUILLENNE

1. Ray. BOUILLENNE : Les hormones végétales.
2. P. PREVOT : Les facteurs de la morphogénèse des bourgeons de néoformation chez « Begonia Rex ».
3. L. DELARGE : Etude de la croissance et de la ramification des racines **in vitro.**
4. J. MOUREAU : Rhizogénèse chez **Coleus** sous l'influence de l'hétéroauxine. Histologie et physiologie du phénomène.
5. R. BOUILLENNE, J. de ROUBAIX et O. LAZAR : Action des hormones sur la croissance de la betterave sucrière.
6. A. WILLAM : Recherches sur l'aquiculture de la betterave sucrière.
7. M. BOUILLENNE-WALRAND : Action de l'hétéroauxine appliquée aux grains de **Zea Maïs** sur le rendement en épis.
8. M. BOUILLENNE-WALRAND : Action de l'hétéroauxine sur la respiration des plantules de **Zea Maïs.**
9. A. WILLAM : La saccharogénie de la Betterave.
10. Ray. BOUILLENNE : Altérations dans les tourbières de Haute-Belgique en rapport avec les plantations de résineux.
11. M. BOUILLENNE-WALRAND et F. DARIMONT : L'habitat antique sur le plateau de la Baraque Michel.
12. F. DARIMONT : Un groupement à « Cirsium palustris » et « Angelica silvestris » sur le plateau des Hautes-Fagnes.
13. L. DELARGE : Variation du pH des eaux des tourbières de la Baraque Michel sous l'influence de la pluie et de la sécheresse.
14. M. FOUARGE : Note sur le « Sphagnum » du plateau de la Baraque Michel.
15. A. MARECHAL : Coup d'œil écologique et phytosociologique sur la pointe extrême du Condroz, située aux portes de Liége.
16. Ray. BOUILLENNE : Ne compromettons pas l'équilibre des forces naturelles. Le sol, les réserves d'eau et la végétation.

Editions L'HORIZON NOUVEAU
LIEGE
1 9 4 6

CORRESPONDANCES ET ECHANGES

Afin d'éviter toute confusion entre le service d'échanges des ARCHIVES DE L'INSTITUT DE BOTANIQUE DE L'UNIVERSITE DE LIEGE et celui de LEJEUNIA (Bulletin des Botanistes Liégeois), nous vous demandons de vouloir bien envoyer toutes correspondances à l'adresse suivante :

M. LE SECRETAIRE DES ARCHIVES
DE L'INSTITUT DE BOTANIQUE
DE L'UNIVERSITE DE LIEGE

3, RUE FUSCH, LIEGE (Belgique)

De cette façon vos intéressantes publications continueront à nous parvenir régulièrement et seront déposées, comme par le passé, dans la Bibliothèque Générale de l'Institut de Botanique.

LES HORMONES VÉGÉTALES [1]

par Ray. BOUILLENNE,
Professeur à l'Université de Liége

Les hormones sont des substances produites dans une partie quelconque de l'organisme et transportées à un autre endroit où elles conditionnent des processus physiologiques bien déterminés.

A l'heure actuelle on a quelque peu élargi cette conception de l'hormone dans le domaine végétal ; une hormone peut très bien être produite dans certaines cellules de la plante et y manifester son action sur place. De plus, on a tendance à supprimer la distinction entre les vitamines, facteurs de nutrition, et les hormones, facteurs spécifiques de corrélation.

La notion des substances spécifiques n'est pas neuve : toute la théorie moderne des facteurs chimiques de corrélation se trouve en puissance dans l'hypothèse émise autrefois par Sachs : « Les différences morphologiques entre les organes des plantes sont dues à des différences correspondantes dans leur composition matérielle, différences déjà

---

[1] Résumé d'une conférence faite par R. Bouillenne, en ouvrant la réunion de la sous-section d'Horticulture.

existantes au moment de l'initiation, même si, à ce stade, les réactions chimiques et autres méthodes grossières ne montrent aucune différence. » Sachs pensait donc qu'il existe des substances spécifiques formatrices de bourgeons, de racines, de fleurs.

Cependant la formation d'organes n'est qu'un aspect du problème de la croissance d'un végétal. En effet, en partant de l'embryon ou d'un méristème, il faut considérer :

1) L'augmentation de la masse (multiplication des cellules).
2) L'élongation des cellules (croissance intercalaire).
3) La différentiation de nouveaux organes (morphogénèse).

I. — Hormones d'augmentation de masse

La vitamine B_1 ou aneurine est nécessaire à la croissance des levures et des champignons. Récemment elle est apparue comme favorisant nettement la croissance des racines déjà existantes (J. Bonner, R. et M. Bouillenne).

L'acide nicotinique (facteur anti-pellagre), d'après des expériences récentes de J. Bonner sur la croissance de racines *in vitro*, se comporte comme une hormone de croissance des racines.

Les composés du groupe Bios sont des substances actives pour la croissance des levures, agissant isolément et surtout en groupes : Le Bios I ou I Inositol, le Bios II ou biotine de Kögl, le Bios III ou vitamine B_1 ; ces trois facteurs du Bios se comportent comme facteurs limitants les uns vis-à-vis des autres.

Il est probable qu'à bref délai d'autres composés seront mis en évidence, qui se révèleront indispensables aux activités mitotiques des cellules et aux biosynthèses qui produisent l'accroissement de la masse des tissus.

II. — Hormones d'élongation ou Auxines

En 1880, F. Darwin avait démontré que le phototropisme des organes exposés à une lumière latérale était dû à une influence transmise de la partie supérieure vers la partie inférieure, obligeant celle-ci à se courber. De même, le géotropisme des racines.

En 1911, Boysen-Jensen, après de nombreuses expériences, établit que ce stimulus était de nature matérielle et pouvait passer à travers une membrane de gélatine humide.

En 1919, Paal démontra que cette substance stimulatrice des courbures phototropiques était promotrice aussi de la croissance normale.

Enfin, l'école d'Utrecht, grâce à la mise au point d'une excellente technique de dosage biologique (F. Went) parvint à obtenir (Went, Kögl, Haagen-Smit, etc.), sous forme cristalline, trois hormones d'élongation :

Auxine *a* ou acide auxentrolique ;

Auxine *b* ou acide auxenolique ;

toutes deux sont stables à la chaleur et à la lumière mais très facilement oxydables.

Hétéroauxine ou acide indolacétique :

L'auxine *a* est stable en milieu acide, détruite en milieu alcalin, P. M. 328.

L'auxine *b* est détruite en milieu acide, détruite en milieu alcalin, P. M. 310.

L'hétéroauxine est détruite en milieu acide, stable en milieu alcalin, P. M. 175.

Les principales régions de production des auxines *a* et *b* sont dans les plantes les bourgeons terminaux et axillaires, les cotylédons, les feuilles et les sommets des coléoptiles ; il semble bien aujourd'hui, d'après les expériences de Van Overbeek, que les pointes radiculaires sont incapables d'en produire (résultats non encore publiés).

Les concentrations normales dans les plantes sont de l'ordre de grandeur de 10^{-6} mol.

Les auxines *a* et *b* peuvent être extraites du malt, du maïs, des farines de lin, de la moutarde, de l'urine, etc.

L'hétéroauxine a une activité qui est environ la moitié de celle des auxines. On peut l'extraire de l'urine, du fumier, de la levure, de *Rhizopus suinus*, etc.

L'hétéroauxine synthétique et les nombreux autres produits synthétiques (homologues supérieurs de l'hétéroauxine : acides indol-propionique, -butyrique, acide naphtalène-acétique, etc., etc.) qui jouissent des mêmes propriétés que les auxines sont employés pour les expériences sur l'allongement des cellules.

Les auxines, comme ces derniers produits, agissent sur l'élasticité des membranes.

Les plantes dépourvues d'auxines ou qui contiennent beaucoup d'oxydase restent naines (expériences de Van Overbeek sur les variétés naines de Maïs).

Aux concentrations plus fortes que normales, 10^{-4} et plus, ces corps agissent sur les mitoses cellulaires et font apparaître des cals, des racines, des monstruosités organiques. Cette dernière propriété des auxines et de leurs succédanés synthétiques est utilisée en agriculture pour l'enracinement des boutures.

De récentes recherches ont montré que l'application d'auxine en fortes concentrations amène aux endroits d'application, un apport considérable de matières nutritives (sucres, etc.) et provoque une augmentation considérable du métabolisme (P. Prevot, J. Moureau).

III. — Les calines ou facteurs d'organisation

De nombreuses expériences montrent que des facteurs spécifiques conditionnent la formation, *de novo*, des organes des plantes (racines, tiges, feuilles, fleurs). Après que Bouillenne et Went ont, en 1933, émis l'hypothèse de la *Rhizocaline*, facteur d'organisation de la structure des racines, divers auteurs ont postulé l'existence de facteurs analogues : pour les tiges, *Caulocaline*, pour les feuilles, *Phyllocaline*, pour les organes sexués, *Blastocaline*.

Cependant aucun de ces facteurs n'a pu être extrait ou isolé à l'état pur, et si les chercheurs diffèrent d'opinion quant à la nature et

au mode d'action, ils n'en sont pas moins généralement d'accord pour affirmer qu'il s'agit de facteurs substantiels se trouvant dans les tissus en quantités infimes. Dans tous les cas, le terme « substances formatrices » rappelé d'après Sachs au début de cette note, ne s'adapte plus guère aux conceptions actuelles et prête à confusion, car ce terme désignerait à la fois les facteurs directs d'organisation et les substances utilisées en fortes concentrations -- donc non biologiques — qui ont la propriété de faire apparaître par exemple des racines. Ce sont, entre autres comme nous l'avons dit plus haut, les acides indolacétique, indolbutyrique, naphtalène acétique, etc.

Or l'action de ces substances n'est pas liée directement dans l'organisme aux phénomènes de la formation des racines, puisque, malgré le traitement, certaines boutures ne donnent jamais de racines ; d'autres n'en donnent qu'à certaines saisons ; d'autres enfin ne forment que des cals. Dans ces conditions, il apparaît que ces substances, dites abusivement rhizogènes, provoquent en fortes concentrations une réaction (réveil des mitoses et prolifération cellulaires) que l'on pourrait qualifier de pharmacodynamique ; mais pour que la différentiation des cellules s'oriente vers la constitution de structures typiques, par exemple de racines, il faut que les cellules elles-mêmes soient aptes à réaliser cette différentiation déterminée. Sinon la prolifération cellulaire produit uniquement des cellules parenchymateuses non différentiées (L. Delarge),

Il devient dès lors évident que, pour qu'il y ait différentiation dans un sens ou dans l'autre, il faut qu'il existe, au moment du processus, à l'intérieur des cellules, un facteur spécial, organisateur d'une structure déterminée.

La question se pose à présent de savoir si ce facteur peut être transloqué comme une véritable hormone, ou s'il fait partie du bagage cellulaire depuis la constitution de la cellule?

Au début de ces recherches, certains auteurs, (nous-même, entre autres) ont cru mettre en évidence une translocation polaire du facteur morphogénétique. Personnellement, aujourd'hui, sur la base d'expériences, dont l'une date de 1933, nous inclinons à penser que la translocation observée n'est pas celle du facteur morphogénétique, mais bien celle de certains éléments non directement liés au phénomène et fonctionnant comme facteur limitant, par exemple les glucides.

Le facteur organisateur de structure se comporte, selon nous, comme s'il était distribué dans les cellules à partir desquelles l'organe en question est néoformé, dès la différentiation par le méristème des tissus auxquels elles appartiennent. L'origine de ce potentiel morphogénétique que nous proposons ici est d'ailleurs conforme au fait bien connu que les bourgeons sont généralement néoformés à partir des épidermes et les racines à partir des cellules environnant les tissus vasculaires. Mais nous ne savons pas encore dans quelle mesure ce facteur est définitivement attaché aux constituants cellulaires, ni s'il n'a pas la possibilité, dans certaines circonstances, soit d'émigrer, soit d'être synthétisé de novo.

Nous pensons que ce dernier point de l'hypothèse ne doit pas être éliminé a priori. En effet, J. Bonner vient d'obtenir tout récemment des extraits qui provoquent l'apparition des fleurs, extraits provenant des seules plantes qui ont été exposées à une durée d'éclairement qui leur est spécifiquement nécessaire. P. Prevot a montré que l'engrais « Colombine » contient un ou des facteurs déclenchant l'apparition de bourgeons sur les feuilles de *Begonia Rex* Putz., à des endroits qui normalement n'en font pas. Evidemment, dans ce cas, il n'est pas encore possible de savoir si la colombine agit grâce à des substances activantes ou par l'appoint de facteurs indispensables à la différentiation. Cependant, même s'il n'était question que d'une activation ou d'une modification du métabolisme cellulaire par l'action de la colombine, comme P. Prevot le suppose, il n'en resterait pas moins vrai que le résultat, à l'intérieur des cellules, de cette activation ou de cette modification du métabolisme, ne peut manquer d'être une modification du complexe physico-chimique cellulaire avec destruction ou enrichissement de substances et peut-être synthèse des facteurs indispensables.

Quoi qu'il en soit l'hypothèse de l'existence des « Calines » facteurs d'organisation est, à l'heure actuelle, des plus fructueuses dans le champ des études sur la morphogénèse des plantes.

(Laboratoire de Physiologie végétale.
Institut de Botanique de l'Université de Liége).

LES FACTEURS DE LA MORPHOGÉNÈSE DES BOURGEONS DE NÉOFORMATION CHEZ « BEGONIA REX »

par P. PREVOT,
Agrégé de l'Enseignement Supérieur

Cette note constitue un résumé partiel de notre travail d'ensemble sur la néoformation des bourgeons chez les végétaux (1). Nous avons simplement rassemblé quelques-uns des faits les plus significatifs, en indiquant l'orientation des recherches qui nous semble la plus favorable pour l'étude de ce chapitre de la morphogénèse.

Voyons d'abord comment la néoformation des bourgeons se présente dans un cas typique, celui des boutures de feuilles (ou de morceaux de feuilles) de *Begonia Rex*.

I. — La néoformation des bourgeons sur la feuille de « Begonia Rex »

Une plante de *Begonia Rex* Putz. présente des méristèmes de bourgeons à l'extrémité de la tige et à l'aisselle des feuilles. Le méristème terminal de la tige donne naissance aux différents tissus de la feuille : épiderme, parenchyme, xylème, phloème. Isolons de la plante un morceau de feuille — plaçons-le dans une couche, sur de la cendrée. Au bout de 10 à 12 jours nous voyons apparaître, à l'extrémité du morceau de feuille la plus rapprochée de la tige (extrémité proximale) (2) de petites protubérances, situées sur la nervure, à la face interne et externe de la feuille. Trois jours plus tard, nous voyons que certaines de ces protubérances ont évolué en racines et d'autres en bourgeons. Une étude anatomique montre que les bourgeons proviennent du recloisonnement de cellules épidermiques et parenchymateuses et les racines de cellules voisines des faisceaux libéro-ligneux (péricycle).

---

(1) P. PREVOT, 1939. — La néoformation des bourgeons chez les végétaux, *Mém. Soc. R. Sc. Liége*, 4e série, t. III, 173-340.

(2) Nous appelons extrémité proximale de la feuille celle qui est la plus proche de la tige, l'autre est l'extrémité distale.

La formation de méristèmes de tiges et de racines sur la feuille de *Begonia Rex* pose deux problèmes :

1) Des cellules différenciées qui auraient gardé normalement leurs caractères histologiques propres, donnent naissance à des méristèmes quand elles sont isolées de l'ensemble de la plante. C'est le problème des *corrélations* entre les diverses parties du végétal.

2) Certaines cellules évoluent en méristèmes de tiges (cellules de l'épiderme) d'autres en méristèmes de racines (cellules du péricycle). C'est le problème de la *morphogénèse* des organes végétaux : quels sont les facteurs qui orientent les divisions de certaines cellules vers la constitution d'un méristème de tige, tandis que les divisions d'autres cellules sont orientées vers la constitution d'un méristème de racine?

On comprend immédiatement l'intérêt théorique considérable qui s'attache aux recherches sur la néoformation des bourgeons et des racines.

L'importance pratique de cette étude ne le cède pas à son intérêt théorique. Si nous approfondissons la connaissance des conditions de formation des bourgeons et des racines, nous faciliterons les bouturages par tiges, feuilles ou racines, de plantes de grande importance économique, dont le bouturage n'avait pas réussi jusqu'ici ; nous fournirons aux agronomes un moyen de sélection rapide.

Un exemple typique à ce sujet nous est donné par le travail de Kwasnikov (1) sur *Cichorium Intybus*. Etudiant la néoformation des bourgeons par les racines de chicorée, l'auteur arrive à accélérer de façon étonnante la sélection des plantes les meilleures. Ces résultats pouraient être directement appliqués à la culture des Chicorées de Bruxelles. Autre exemple : nous avons réussi à provoquer la néoformation de bourgeons sur des rondelles de racines de Betteraves sucrières. Ce moyen pourrait être utilisé pour la sélection rapide de variétés donnant un fort pourcentage en sucres.

II. — Théories

Dans cette courte note, nous examinerons seulement le problème de la morphogénèse des bourgeons.

L'analyse simultanée des deux questions nous entraînerait trop loin. Contentons-nous de dire au sujet des corrélations d'inhibition que les points suivants semblent bien établis à l'heure actuelle :

1) Le sommet méristématique de la tige exerce une action inhibitrice *directe* sur le développement des bourgeons auxillaires et la néoformation des bourgeons.

2) L'auxine n'est pas le facteur des corrélations d'inhibition.

3) L'action inhibitrice est transmise par des cellules vivantes et dans le cas des bourgeons de néoformation par les nervures de la feuille.

4) L'action inhibitrice est probablement de nature substantielle.

---

(1) Kwasnikov, B. V., 1937. — *Bull. Ac. Sc. U. R. S. S.*, Ser. biol., II, 383-392.

Les diverses hypothèses qui essaient d'expliquer la morphogénèse des bourgeons de néoformation peuvent se ramener à 2 schémas :

1) Une cellule différenciée possède à l'état latent la potentialité de donner d'autres structures. Si cette potentialité est totale, elle pourra donner n'importe quel tissu végétal, comme l'œuf dont elle dérive. Si cette potentialité est partielle, elle ne pourra donner qu'une certaine catégorie de structures. Pour mettre cette potentialité latente en évidence, il suffira de modifier les corrélations de cette cellule avec les autres tissus de la plante.

Dans cette théorie, l'accent est donc mis sur les caractères internes de la cellule ou d'un tissu. Ces caractères peuvent être plus ou moins cachés par les rapports de ces cellules avec l'ensemble de l'organisme (corrélations d'inhibition, nutrition, eau, enzymes, etc...). Cependant, pour la constitution de méristèmes à partir de cellules différenciées, ce sont les caractères dont cette cellule a hérité lors de la différentiation, à partir du méristème terminal, qui déterminera ce dont elle sera capable. Les facteurs externes à la cellule (facteurs extérieurs à l'organisme ainsi que les corrélations internes) ne joueraient que le rôle de facteurs limitants.

2) Dans la deuxième théorie, au contraire, on suppose que les divisions d'une cellule différenciée sont orientées par un apport de substances synthétisées dans d'autres parties de la plante. Ces substances agiraient en quelque sorte comme les organisateurs animaux. Selon que ces substances sont organisatrices de tiges ou de racines, les cellules sur lesquelles agiraient ces substances donneraient des méristèmes de tiges ou de racines. Cette théorie est généralement connue sous le nom de « théorie des substances formatrices ».

Nous pensons que l'on a, dans ces dernières années, abusé de cette dernière hypothèse de travail. C'est ainsi que quand Went [1] conclut de ses expériences de greffage qu'il existe chez *Pysum sativum* des substances spéciales (les « calines ») nécessaires à la croissance de la tige (caulocaline), l'hypertrophie de la tige (après application d'hétéroauxine), le développement du mésophylle des feuilles (phyllocaline), la formation des racines (rhizocaline), on ne peut s'empêcher de penser qu'il y a là une hâte excessive à baptiser des substances dont l'existence est encore entièrement hypothétique.

La théorie des substances formatrices est un outil utile lorsqu'elle attire l'attention sur l'influence probable de certaines substances qui, transportées d'une partie du végétal à l'autre, y joueraient un rôle assez semblable à celui des hormones ou des vitamines chez les animaux, quand elle met en évidence des facteurs de corrélations qui existent entre les diverses parties d'un organisme et quand elle oriente les recherches vers l'isolement de ces substances.

Mais, envisagée comme elle l'a été trop souvent jusqu'ici, comme une expression commode des faits que l'on ne comprend pas, elle

(1) Went, F. W., 1938. — Specific factors other than auxin affecting growth and root formation. *Plant. Phys.*, XIII, 1, 55-80.

justifie pleinement l'opinion de Priestley et Swingle (1) : « The phraseology of the « formative stuffs » hypothesis is still usually employed and in this field is found the only positive experimental evidence which has been brought forward in support of such hypothesis ».

Nous allons montrer par quelques expériences typiques que dans le problème de la morphogénèse *le facteur essentiel est le facteur cellulaire* : les caractères héréditaires des cellules, la nature du tissu déterminent ses potentialités de néoformation de bourgeons.

III. — Expériences

Nous avons analysé les facultés de néoformation de divers hybrides de Begonias et de leurs parents.

Les résultats sont donnés par le tableau I.

TABLEAU I. — *Caractère héréditaire de la néoformation des bourgeons*

	Hybrides		Mère		Père	
♂ et ♀ donnent des bourgeons	Carolinae	(+)	Acuminata	(+)	Nitida	(+)
	Colonel Six	(+)	Caroliniaefolia	(+)	Heracleifolia	(+)
	Erytrophylla	(+)	Hydrocotylefolia	(+)	Manicata	(+)
	Heracleicotyle	(+)	Heracleifolia	(+)	Hydrocotylefolia	(+)
♂ ou ♀ donnent des bourgeons	Admin. Dehalu	(+)	Duchartrei	(—)	Princeps	(+)
	Leodiense	(+)	Echinosepala	(—)	Princeps	(+)
	Abel Carrière	(+)	Rex	(+)	Discolor	(?)
	Dir. H. Chevalier	(+)	Metallica	(—)	Princeps	(+)
	Legia	(+)	Acuminata	(+)	Semperfloreus var. Carmen	(—)
♂ et ♀ ne donnent pas de bourgeons	Prince de Liége	(—)	Forgetiana	(—)	Corallina	(—)
	Gabrielle Petit	(—)	Corallina	(—)	Undulata	(—)
	Prof. Gravis	(—)	Corallina	(—)	Dichroa	(—)
	Gén. Léman	(—)	Comte de Miribel	(—)	Dichroa	(—)
	Credneri	(—)	Scharffiana	(—)	Metallica	(—)
	Centenaire	(—)	Rugelii	(—)	Scharffiana	(—)

(+) = Production de bourgeons ; (—) = pas de production de bourgeon ; (?) = espèce non expérimentée.

Il met en évidence les points suivants :

1) Si aucun des 2 parents ne possède la faculté de donner des bourgeons, l'hybride qui en résulte ne la possède pas non plus.

2) Si un des deux parents possède cette faculté, l'hybride la possède aussi.

Par conséquent, *la faculté de néoformation de bourgeons par des boutures de feuilles est un caractère héréditaire dominant.*

(1) PRIESTLEY, J. et SWINGLE, F. 1929. — Vegetative propagation from the standpoint of plant anatomy. *U. S. A. Depart. of Agric Techn. Bull.*, CLI, 1-98.

Cette expérience montre l'importance de la qualité du bagage héréditaire dans les phénomènes de néoformation. *On peut dire que dans ces recherches elle ouvre un nouveau domaine d'investigations.*

* * *

Dans une autre série d'expériences, nous avons analysé la faculté de néoformation des divers tissus de la feuille.

Nous avons constaté que l'*épiderme est indispensable pour la néoformation des bourgeons*. En effet, si on enlève l'épiderme au-dessus de la nervure principale, on constate que le parenchyme sous-jacent se cicatrice mais est incapable de donner des bourgeons (fig. 1).

Fig. 1.
Partie hachurée = épiderme enlevé : cicatrisation, pas de bourgeons. Ceux-ci apparaissent latéralement, là où l'épiderme a été laissé.

Par contre, les autres tissus de la nervure ne sont pas nécessaires. Cela est bien montré par le fait que nous avons réussi à faire produire des bourgeons (mais pas de racine) sur des lambeaux d'épiderme et de parenchyme isolés de la nervure (fig. 2).

Il y a donc tout ce qu'il faut dans des cellules épidermiques (plus quelques cellules du parenchyme sous-jacent) *pour donner naissance à des bourgeons.*

Cette expérience montre bien l'importance primordiale du facteur cellulaire pour la néoformation des bourgeons. Il faut qu'héréditairement et physiologiquement la cellule aie les potentialités de donner des bourgeons pour qu'on réussise à lui en faire produire. *On n'est jamais arrivé à faire donner des bourgeons de néoformation par des plantes qui ne manifestent pas ce pouvoir spontanément.*

Sans doute, l'accumulation ou le départ de certaines substances pourra favoriser ou empêcher la néoformation des bourgeons. C'est ainsi que les conditions de nutrition peuvent constituer un facteur limitant, ou bien, le sommet méristématique de la tige peut inhiber la néoformation des bourgeons sur la feuille. Ou bien encore l'application d'hétéroauxine à l'extrémité distale d'un morceau de feuille fait apparaître des bourgeons à cet endroit où il ne s'en forme normalement jamais (fig. 3). Le même résultat est obtenu en plaçant cette extrémité distale dans des conditions d'anaérobiose à peu près complètes (fig. 4). Enfin, en traitant des plantes par un engrais à base

d'excréments de pigeon, le « colombine », on arrive à augmenter de façon étonnante le nombre des bourgeons formés par la plante. Les bourgeons apparaissent alors à n'importe quel endroit du morceau de feuille, et en quantité vraiment extraordinaire.

FIG. 2. — Lambeau d'épiderme et de parenchyme ayant formé des bourgeons, mais pas de racine.

FIG. 3. — Production de bourgeons et de racines à l'extrémité distale (à gauche) par application d'hétéroauxine.

Certaines substances arrivent donc à «activer» des cellules et à leur faire produire des bourgeons.

Fig. 4. — L'extrémité distale d'un morceau de feuille, mise dans une atmosphère d'azote, produit des bourgeons.

Les découvertes importantes réalisées ces dernières années dans le domaine des « substances de croissance » nous portent à penser que dans le végétal il existe toute une série de substances qui règlent les corrélations entre les diverses parties d'un végétal, soit en bloquant certaines activités physiologiques, soit au contraire en les activant.

Mais il ne faut pas oublier que c'est dans la cellule elle-même que réside ses « potentialités ». Nous pensons qu'une des contributions les plus importantes qu'on puisse apporter à la solution du problème de la morphogénèse des bourgeons, consiste à étudier les caractéristiques métaboliques et physico-chimiques de cellules capables de former des bourgeons, comparativement aux cellules du même organe qui ne manifestent pas ce pouvoir (par exemple les cellules épidermiques de *Begonia Rex* et les cellules des tissus conducteurs).

C'est dans cette voie que nous avons orienté nos recherches.

Dans nos dernières expériences, nous avons montré que *la néoformation des bourgeons s'accompagne d'une augmentation considérable du métabolisme.* Ce résultat pouvait être posé à priori, puisque la constitution de nouveaux méristèmes réclame vraisemblablement une dépense d'énergie considérable. Mais le fait n'avait jamais été démontré, probablement à cause des difficultés techniques de la mesure.

En utilisant la technique manométrique de Dixon et Keilin légèrement modifiée, nous avons montré que dans *Cichorium Intybus*,

Populus nigra et *Begonia Rex*, la néoformation des bourgeons est accompagnée d'une forte augmentation du métabolisme (fig. 5).

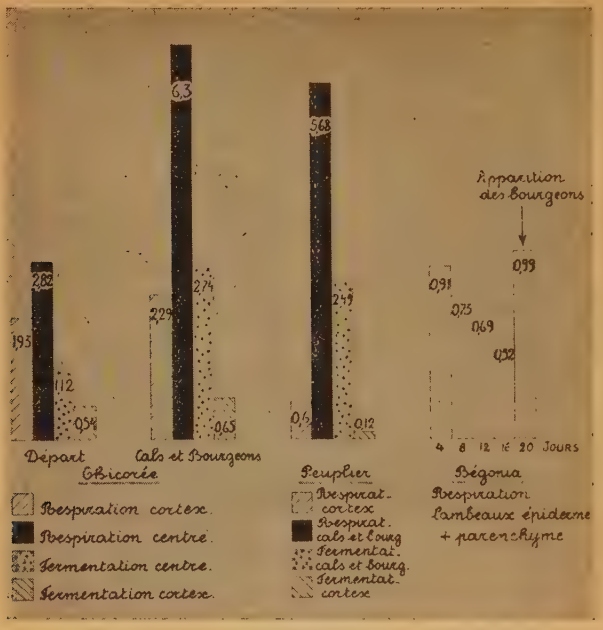


FIG. 5. — Néoformation de bourgeons et métabolisme (respiration fermentation).

Cette augmentation du métabolisme lors de la production des bourgeons doit être mise en rapport avec l'action de divers facteurs (hétéroauxine, colombine, anaérobiose) sur la néoformation des bourgeons : *si l'apparition des bourgeons coïncide avec une augmentation de métabolisme, une modification du métabolisme provoque la production de bourgeons.* Nous préciserons dans nos prochaines expériences les rapports de cause à effet entre métabolisme et production des bourgeons.

Nous avons aussi entrepris à l'heure actuelle un ensemble de recherches sur les caractéristiques physicochimiques des tissus de néoformation.

IV. — Conclusions

La constitution d'un méristème de tige à partir de cellules différenciées est sous la dépendance de deux grandes catégories de facteurs :

1) Les facteurs de *corrélation*, c'est-à-dire les rapports entre certaines cellules et le reste de l'organisme. Ces rapports sont vraisemblablement réglés par des substances à caractère hormonal.

2) Les facteurs de *morphogénèse*, qui sont déterminés par les propriétés physiologiques et physico-chimiques de la cellule elle-même.

Nous pensons qu'il est utile d'attirer l'attention sur le fait que

ce sont ces derniers facteurs intracellulaires qui se trouvent à la base de la néoformation des bourgeons et sur le danger que présente l'abus de la phraséologie des « substances formatrices ».

Il nous semble que ce terme devrait être abandonné puisque les « substances formatrices », c'est-à-dire les substances qui contrôlent la morphogénèse des bourgeons se trouvent dans la cellule elle-même et que, dans ce cas, l'utilisation du terme n'ajoute rien à nos connaissances ni à nos possibilités de recherches.

La « théorie hormonale » chez les végétaux — qui possède déjà des bases sérieuses comme les auxines — doit plutôt être orientée dans le sens de la détermination des substances qui maintiennent les corrélations entre les diverses parties de la plante.

(*Laboratoire de Physiologie végétale. Institut de Botanique de l'Université de Liége*).

L. DELARGE

Docteur en Sciences, Université de Liége.
Lauréat du Concours Universitaire
(Laboratoire de Physiologie végétale, Institut Botanique.)

ÉTUDE DE LA CROISSANCE ET DE LA RAMIFICATION DES RACINES *IN VITRO*

BRUXELLES

M. HAYEZ, IMPRIMEUR DE L'ACADÉMIE ROYALE DE BELGIQUE
Rue de Louvain, 112
(Domicile légal : rue de la Chancellerie, 4)

—

1941

Extrait des *Mémoires*
publiés par la Société royale des Sciences de Liége
(2e série, tome V, 1941).

LÉON DELARGE

(1914-1940)

LÉON DELARGE

1914-1940

Léon-Charles-Albert Delarge est né à Liége le 13 juin 1914, dans les jours qui ont immédiatement précédé l'envahissement de la Belgique; il a été mortellement blessé 26 ans plus tard, sur le front de la Lys, le 27 mai 1940, alors qu'il combattait avec un farouche patriotisme. Il est mort dans un hôpital à Gand, quelques jours après, le 31 mai 1940.

L'Université de Liége lui avait décerné, le 24 mars 1939, le diplôme de Docteur en Sciences Naturelles (Botaniques) avec la plus grande distinction. Ayant consacré aux recherches de sa thèse doctorale presque deux années, Léon Delarge avait dû mettre un terme à ses expériences le 31 mars 1938, pour entrer au service militaire, sans avoir eu le temps de rédiger son mémoire. Malgré les longues prestations de la caserne, il avait réussi à mettre au point un texte excellent. La défense publique de sa thèse, pour laquelle trois jours de congé seulement lui furent accordés, fut brillante et hautement appréciée par le Jury. Au surplus, Léon Delarge s'était préparé au Concours interuniversitaire pour les Sciences Botaniques. Cette préparation avait été rendue particulièrement difficile par suite des dernières phases de la mobilisation du pays, auxquelles il a participé comme Adjudant C.S.L.R. à la V D.I. Néan-

moins, le 16 décembre 1939, il obtenait à ce concours un Premier Prix avec médaille d'or pour son « Etude de la Croissance et de la Ramification des racines, *in vitro* ».

Dans le court espace de temps entre deux guerres, Léon Delarge eut une jeunesse sérieuse et enthousiaste. D'une part, sa première enfance fut douloureusement frappée par la mort de sa mère; d'autre part, la tendre affection de son père et la pénétrante sollicitude dont son éducation fut environnée aussi bien dans sa famille que dans l'enseignement moyen lui avaient forgé un caractère ferme et courageux, lui donnèrent le goût du travail et en firent un étudiant d'élite.

Intelligence rapide et sûre, conscience probe, persévérance obstinée, désintéressement, énergie, telles étaient les qualités caractéristiques du jeune Delarge quand je l'ai connu!... Et je l'ai connu avant même qu'il eût quitté les bancs du Collège Saint-Louis à Liége. En effet, l'un de ses maîtres qui s'était intéressé à lui et l'avait apprécié à sa valeur l'avait introduit à l'Institut de Botanique de l'Université de Liége, parce que le petit collégien ajoutait à sa personnalité, déjà nettement marquée, une curiosité passionnée pour les Sciences et spécialement pour l'étude des plantes.

Il m'avait si bien conquis, que je lui avais accordé de passer quelques jours à la Station scientifique du Mont Rigi, en 1932, pendant les vacances qui ont précédé son entrée à l'Université. Je me souviendrai longtemps de sa première journée en fagne, dans un milieu où son goût pour les Sciences Naturelles le faisait en quelque sorte communier avec la nature; une nature dont le faciès très spécial se manifestait à lui par les traits impressionnants d'une sauvagerie presque complète. Jeune homme discrètement timide, bien élevé, entraîné à la marche et habile au sport, Léon Delarge

attirait par sa curiosité attentive, la concentration souriante de son esprit; il donnait l'impression de pénétrer dans le monde biologique des Hautes-Fagnes comme dans un sanctuaire. Dans la lumière du soir, au retour d'une longue excursion, sa figure d'adolescent illuminée par des yeux ardents lui donnait un air de jeune apôtre. Ayant été témoin plus tard de ses inlassables efforts dans la recherche scientifique, j'ai souvent revécu cette journée où je fus frappé par la découverte d'une vocation.

Il est revenu dans ce modeste et bienfaisant petit laboratoire, de nombreuses fois, de 1932 à 1938 et il y a entrepris, spécialement en 1934, 1935 et 1936, des observations et des expériences dont l'importance et la valeur ont régulièrement progressé à mesure que sa formation lui faisait entrevoir de nouveaux problèmes. L'un de ses travaux, réalisé en 1936-1937, fut consacré à l'évolution du pH des eaux des tourbières au cours de l'année. Il fut pour cela astreint à parcourir les fagnes en toutes saisons. Ni les difficultés du terrain, ni la chaleur, ni la fatigue des longues randonnées hivernales ne l'ont empêché de mener à bien ce travail que beaucoup eussent abandonné rapidement. Il a communiqué une note résumant ses conclusions au Congrès de l'Association Française pour l'Avancement des Sciences, à Liége, en 1939. On y constate qu'il apporte une contribution originale et de valeur au problème de l'influence du pH de l'eau et du sol sur la constitution des associations végétales des tourbières.

Léon Delarge est entré à l'Université de Liége en octobre 1932. Il y a d'abord suivi, pendant deux ans, les enseignements de la Candidature en Sciences biologiques. Il fut tout de suite passionné pour ses cours, cherchant à les approfondir par tous les moyens :

lectures, conférences, questions posées, discussions; mais c'est vers la biologie végétale qu'allaient ses préférences. A l'occasion du Cours d'Eléments de Botanique et du Cours de Compléments de Botanique donnés aux futurs candidats biologistes, je suis entré directement en contact avec lui. Les rapports que nous avons eus à ce moment à sa table de travail se transformaient souvent en de longues conversations sur certains points de la Botanique et me faisaient désirer autant que lui que soit proche l'instant où il pourrait, à longueur de journée, pendant toute l'année, se consacrer aux problèmes du monde végétal.

Pendant ces deux années il n'a cessé de fréquenter les laboratoires de recherches de l'Institut de Botanique. On l'y trouvait toutes les après-midi que ses cours et laboratoires obligatoires lui laissaient et aussi entre midi et deux heures ou après six heures du soir, parfois le dimanche. Il observait au microscope avec une patiente ardeur; il lisait abondamment et sa table était souvent encombrée de multiples emprunts faits aux bibliothèques scientifiques spéciales. Il économisait pour acheter lui-même certains ouvrages importants.

En octobre 1934, il s'installait enfin dans l'Institut de Botanique, en vue de préparer les épreuves de la Licence en Sciences Botaniques. Il partageait son temps entre les Cours et les Laboratoires de Morphologie et de Systématique, sous la direction du Professeur A. Monoyer; ceux de Paléontologie végétale, sous la direction du Professeur S. Leclercq; ceux de Physiologie, d'Ethologie végétales et de Géographie Botanique, sous ma direction.

C'est avec Grande Distinction qu'il termine les deux années de Licences, en même temps qu'il présente une dissertation très appréciée, dans laquelle il révèle la

solide formation acquise dans les diverses disciplines de la Botanique. Il y mit au point la culture pure « monoalgale » de *Phormidium uncinatum*; il s'est attaché à l'étude des conditions de formation des colonies de cette algue (« Recherches sur la Culture d'une Schizophycée : *Phormidium uncinatum* Gom. », 1937, *Bul. Soc. Roy. Bot. de Belgique*); il a procédé à l'extraction d'un pigment végétal caractéristique des algues bleues et en a obtenu la cristallisation avec la collaboration de M^me^ M. Bouillenne-Walrand (« Contribution à l'étude des pigments végétaux. Extraction et Cristallisation de la Phycocyanine de *Phormidium uncinatum* Gom. », 1937, *Revue Gén. de Botanique, France*).

En octobre 1936, il complète son diplôme de licencié par une agrégation de l'Enseignement moyen du degré supérieur.

Sans désemparer, Léon Delarge entreprend une thèse pour l'obtention du diplôme de Docteur en Sciences Botaniques. Il se consacre, dans le domaine de la Physiologie végétale, au problème tout récent de l'action des hormones végétales sur l'organogénèse, au sujet de laquelle il avait d'ailleurs fait de nombreuses observations personnelles au cours de ses années de licences (« Note sur la différenciation des bourgeons et des racines et sur la production de tissus indifférenciés chez *Crinum capense* L. », 1936, *Bul. Soc. Roy. Bot. Belg.*). Il se limite à l'organogénèse des racines et s'attache à étudier cette question par la technique la plus délicate, consistant à observer les conditions de l'apparition des racines, non plus à partir des boutures ou des plantules, mais bien à partir des racines elles-mêmes. De plus, afin de serrer le phénomène de plus près et de diminuer autant que possible le nombre des facteurs en jeu, il pratique la méthode d'isolement

et cultive les extrémités radiculaires *in vitro* en milieux synthétiques, standardisés et aseptiques.

D'autres diront ce que ce travail a coûté de mises au point difficiles, d'essais à recommencer, sans découragement, avec des conditions expérimentales nouvelles par suite de résultats dont la complexité rendait l'interprétation impossible, de constance et d'efforts personnels, étant donnée la nécessité de passer de longues journées d'observations dans le milieu même où sont installées les cultures de tissus *in vitro* (cave aseptique à 26°5 C., maintenus constants à 1/10 de degré près et à forte humidité).

Les résultats de ce labeur de presque deux années, réalisés pour ainsi dire sans interruption (soirées et dimanches y compris), sont à la mesure de l'énergie enthousiaste que Léon Delarge y a dépensée. Ils ont mis de la clarté dans une masse confuse d'observations et d'expériences parfois contradictoires; grâce à sa minutieuse précision, ils ont établi quelques faits de première importance dans le problème de la rhizogenèse.

Léon Delarge entra comme milicien, le 31 mars 1938, au 2e Régiment de Chasseurs à pied à Charleroi. Pendant tout son service militaire, il est resté en contact avec l'Institut. On le revoyait à chaque permission. Démobilisé le 30 août 1939, il est rappelé sous les armes aussitôt comme sergent, puis comme adjudant, jusqu'à sa mort.

A l'Institut de Botanique, Léon Delarge ne manquait aucune occasion de participer aux activités scientifiques parallèles à l'enseignement proprement dit : Séminaire de Biologie végétale, Cercle de Botanique liégeois, excursions, échanges de vue sur les travaux récents parus dans la littérature. Ces entretiens avaient lieu à l'occasion du thé quotidien, réunissant tous les

membres de l'Institut et les étudiants spécialisés, ordinairement dispersés pendant la journée dans les divers laboratoires.

Pendant les vacances, il a travaillé au Laboratoire de Biologie Marine, à Blankenberghe (Prof. D. Damas), en 1935, 1936, 1937; à la Station scientifique des Hautes-Fagnes, au Mont Rigi (Prof. R. Bouillenne) 1932, 1933, 1934, 1935, 1936, 1937; et à la Station zoologique Alfred Giard, à Wimereux (Prof. Caullery), 1936, 1937.

Léon Delarge avait devant lui un bel avenir de recherches à poursuivre avec le même entrain qu'il manifestait toujours dans ce qu'il entreprenait. Il avait l'assurance d'être proposé comme assistant du Cours d'Eléments de Botanique (Candidatures); il avait en outre la perspective très intéressante de devenir Chef du laboratoire de Physiologie végétale de la grande station de recherches à Yangambi, dépendant de l'Institut national pour l'Etude agronomique du Congo belge, où sa personnalité était accueillie avec bienveillance et sa nomination sur le point d'être décidée en mai 1940.

Il appartenait déjà aux hommes de bonne volonté pour lesquels le culte de la science pure n'efface pas la vision que celle-ci est d'autant plus belle qu'elle peut devenir utile. Ses premiers travaux promettaient une carrière féconde et dévouée; ils annonçaient un homme de science de grande valeur. Son énergique attachement au perfectionnement de sa personnalité et de sa formation, certains aspects de son esprit où la pensée poétique complétait très heureusement les vertus d'un idéal scientifique, de même que sa droiture intransigeante et une sorte de noblesse, faisaient de Léon Delarge un homme d'une qualité rare et un compagnon précieux. Le pays pouvait compter sur lui et les cir-

constances de sa mort courageuse prouvent qu'il savait payer de sa personne. Il a été jusqu'au sacrifice total de sa vie.

L'Université de Liége pleure la disparition d'un de ses plus brillants élèves, et l'Institut de Botanique, ainsi que tous les botanistes, perdent un chercheur enthousiaste et sagace dont le souvenir restera tout environné à la fois d'estime et de profonde affection.

R. Bouillenne.

A mon bien cher Papa
très affectueusement,
à l'aube de mon
carrière scientifique
Léon
2/5/1937

« ESTO VIR

» Va, ta route est dure...
» Elle est belle, puisque tu l'as
» ensoleillée d'Idéal. »

Léon DELARGE.

HOMMAGE D'UN PÈRE A SON FILS

Léon-Charles-Albert Delarge est né à Liége, au quartier d'Amercœur, le 13 juin 1914.

Ayant perdu, peu après l'Armistice de 1918, alors qu'il atteignait ses quatre ans et demi, une jeune et admirable maman, l'enfant allait en éprouver, au cours de sa féconde mais trop brève existence, de profonds et mélancoliques regrets.

Écoutez sa plainte :

> Oh ! que ne puis-je à nouveau entendre cette voix si douce, qui, depuis treize ans déjà, s'est tue à jamais, cette voix chaude et affectueuse qui chantait jadis pour clore mes petites paupières alourdies de sommeil ou pour dissiper mes gros chagrins d'enfant... ! (1).

Et, plus tard, dans quelques vers intitulés « Pourquoi? » (2), il laisse déborder son affliction :

> Ils sont bienheureux, car ils ont leur mère
> Pour les consoler dans leur peine amère.
>
> Ils n'ont pas besoin de chercher un cœur,
> Car leur mère est là près de leur douleur.

(1) Poèmes en prose, VII : « Maman ».
(2) Vers (Cahier n° 3, p. 77).

Ils ne savent pas le calvaire rude
Qu'on gravit meurtri par la solitude.

Ils n'ont jamais peur, ils n'ont jamais froid,
Ayant leur Maman, toujours, sous leur toit.

Ils ne manquent pas de douces caresses :
Un sourire est là qui jamais ne blesse.

Et vous, ces heureux, dites-moi pourquoi
Je n'ai pas connu ma Maman, à moi.

Après de solides études primaires à Verviers, à l'Institut Saint-Michel, puis à celui de Malonne, à Saint-Berthuin, dirigés tous deux par les excellents maîtres que sont les Frères des Écoles Chrétiennes, Léon entra chez d'autres remarquables éducateurs, les Révérends Pères Jésuites, au Collège Saint-Louis, à Liége, où il allait parcourir avec succès le cycle des Humanités Gréco-Latines.

A sa sortie de Rhétorique, le jeune adolescent remportait le prix de Poésie, puis le prix spécial de Littérature française, décerné annuellement par l'Association des Anciens Élèves à leurs cadets.

Léon n'était-il pas poète et un poète à l'âme extrêmement délicate et sensible? Écoutez encore (1) :

O vous, les fleurs de mon jardin,
Ouvrez au soleil vos corolles,
Et de votre parfum si fin,
Aux exhalaisons folles,
Endormez, endormez mon cœur
Dans son bonheur! (2).

---

(1) De larges extraits de ses « Cahiers » paraîtront prochainement dans un volume intitulé : « Œuvres posthumes (Pensées, Poésies, Prose) de Léon Delarge, Docteur en Sciences, Adjudant de réserve, tombé pour la Patrie et son Roi le 27 mai 1940 ».

(2) Vers (Cahier n° 3, p. 54). « Retour ».

Le 6 novembre 1932, en plein travail de Première Biologie, l'étudiant soupire :

O ma pauvre lyre esseulée,
Tu n'accompagnes plus ma voix,
Car ma vagabonde pensée
Ne s'en va plus comme autrefois,
A travers les champs et les bois !
Mon âme est désolée.
Non, je n'ai pas chanté pour la dernière fois (1).

Léon remportait aussi la palme au concours littéraire de la Jeunesse estudiantine catholique, la JEC, en janvier 1931.

En octobre 1932, Léon entrait à l'Université de Liége. Il prenait son inscription pour la candidature en Sciences naturelles et, immédiatement, se mettait au travail avec toute l'ardeur de sa robuste et souriante jeunesse.

Ces études, extrêmement ardues, ne sont réservées qu'à un nombre infime de jeunes gens que passionne la recherche scientifique, l'avenir dans cette carrière étant loin d'être d'emblée fructueux, en admettant même que, pour quelques rares d'entre eux, il le devienne.

Mais dans le calme des laboratoires, loin des vains bruits de la foule, ces silencieux érudits savent qu'ils pourront développer leurs dons dans une indépendance complète et absolument désintéressée.

« Le savant, comme le moine, vit caché, car il a compris la grandeur de son sacerdoce et la misère du monde », affirme Léon.

Du reste, sous les excellentes directives de ses savants professeurs, M. Raymond Bouillenne, Direc-

(1) Vers (Cahier n° 3, p. 81).

teur de l'Institut et du Jardin de Botanique de Liége, Professeur de Physiologie végétale et de Phytogéographie, et de M. Armand Monoyer, Professeur de Morphologie végétale et de Systématique botanique, mon fils, d'emblée, se passionna pour la Biologie végétale. Dans le petit cénacle de la rue Fusch, maîtres et disciples se comprenaient.

Madame M. Bouillenne-Walrand, conservateur à l'Institut de Botanique de Liége, fut, elle aussi, — et je lui en suis reconnaissant, — très attentive aux divers travaux de licences du jeune étudiant et à sa thèse doctorale.

Il m'est extrêmement agréable de mettre sous les yeux de mes érudits lecteurs l'éloge que vient de me faire de mon enfant son Professeur, M. Raymond Bouillenne :

> Léon était considéré ici comme le fils de la maison, parmi les plus affectueusement estimés. Son enthousiasme pour la Science, sa ténacité dans la recherche, son désir de s'instruire toujours davantage, de solliciter les conseils, ses efforts pour les suivre et la progression constante de sa personnalité me le rendaient infiniment cher...

Parfaire son individualité, telle était l'une des devises de mon fils : « Plus on est personnel et plus on a de valeur », disait-il (1).

> Le monde est tellement aveuglé et tellement bizarre, qu'il juge anormaux et insensés les rares sages qui ne veulent pas se laisser emporter dans le courant de la médiocrité générale (2).

écrit mon biologiste.

---

(1) Pensées, 30 janvier 1933.
(2) Pensées, 4 juin 1933.

Dans les Laboratoires de Physiologie végétale à l'Institut de Botanique de Liége en juin 1935

« L'IDÉAL RÊVÉ »

Léon poursuit avec acharnement « sa vocation ». Il la définit comme suit :

> Avoir un idéal, c'est croire, surtout dans la défaite, à la réussite, au triomphe. Il est facile d'être fort, d'être quelqu'un en temps de paix (1).
> Il me fera triompher, mon grand idéal, mais triompher comme je l'entends, nous que le monde appelle les exaltés et les fous parce que nous avons compris la sublime chanson des choses humbles et, par-dessus tout, la voix indicible et irrésistible de Dieu qui nous parlait dans la nature, son œuvre (2).

Et ce « grand idéal » auquel il aspire revient comme un leit-motiv dans ses cahiers de pensées ou de notes :

> Un grand idéal exige souvent beaucoup d'abnégation et de renoncement. Il exige un don total (3).

Chez Léon, l'étude était devenue une noble et fructueuse passion.

A l'Institut botanique de Liége, dans les laboratoires de Physiologie végétale, il rencontrait quasi journellement M. le Docteur Henri Welsch. Celui-ci, qui avait pris mon jeune homme en haute estime, lui donna les conseils les plus précieux. Il entrevoyait pour lui une « carrière de maître ». J'aime dans ces quelques lignes, où je laisse parler mon cœur, rendre un particulier hommage à ce mentor qui, passionné de science, savait encourager mon fils dans son labeur.

Dans les mêmes laboratoires, Léon fit la connaissance de M. Florian Cosandey, Professeur de Botanique à l'Université de Lausanne, à l'occasion du long séjour de celui-ci dans le département de Physiologie

(1) Pensées, 12 avril 1933.
(2) Pensées, 10 mai 1933.
(3) Pensées, 1932-1936.

du Professeur Raymond Bouillenne. M. Cosandey ne m'en voudra pas si, au nom de l'amitié qui le liait à mon cher fils, je reproduis ici quelques phrases d'une lettre qu'il m'adressait au début de janvier 1941 :

> Jamais l'image de Léon ne quittera nos souvenirs... Ses travaux, témoignage reconnu d'un avenir qui s'ouvrait beau et fécond, ont une place d'honneur dans mon bureau, seul témoignage que je puisse rendre maintenant à ce cher jeune collègue dont nous évoquions si souvent l'optimisme, la science et la valeur morale...
>
> Votre cher fils ne laisse qu'un lumineux souvenir, sans tache, sans ombre. Qu'à votre légitime orgueil paternel s'ajoute l'estime des maîtres et des amis de votre fils.

Pour la deuxième année de Licence, notre étudiant présente un mémoire intitulé : « Recherches sur la culture d'une Schizophycée : *Phormidium uncinatum* Gom. » (1). Ce travail lui mérite, le 13 juillet 1936, la grande distinction. En octobre 1936, il réussit avec grande distinction l'épreuve pour l'agrégation de l'enseignement moyen du degré supérieur.

Il publia, de 1937 à 1940, plusieurs études qui ont paru dans des revues scientifiques (2), travaux dont,

---

(1) *Mémoires de la Société des Sciences de Liége*, 4e série, tome II.

(2) Note sur la différenciation des bourgeons et des racines de la reproduction de tissu indifférencié chez *Crinum Capense* L. (Impr. Duculot, Gembloux, 1936.)

Recherches sur la culture d'une Schizophycée (*Phormidium uncinatum* Gom.) (Impr. Hayez, Bruxelles, 1937.)

Contribution à l'étude des pigments végétaux. Extraction et cristallisation de la phycocyanine de *Phormidium uncinatum* Gom. (Impr. Lesot, Nemours, 1937.) — M. Bouillenne-Walrand et L. Delarge.

Cultures de méristèmes radiculaires *in vitro*. Les variations individuelles et leur signification physiologique. (Impr. Duculot, Gembloux, 1938.)

Croissance et ramification des racines cultivées isolément (*Bulletin de la Société des Sciences de Liége*, 15 juin 1939).

Cultures de méristèmes radiculaires *in vitro*. Les milieux réputés complets et les variations individuelles. (Impr. Duculot, Gembloux, 1939.)

en outre, il distribua un certain nombre de tirés à part aux universités et à ses amis du monde savant.

Après la deuxième année de Licence, Léon entreprit une thèse doctorale, sous la direction de M. le Professeur Bouillenne, sur l'une des questions les plus actuelles et controversées de la Physiologie des plantes. Pendant près de deux années, Léon ne vécut que pour ses recherches botaniques. Il restait des journées entières penché sur son microscope, terré dans un laboratoire de fortune, installé dans une cave « conditionnée », très basse, aux dimensions extrêmement exiguës, dans les sous-sols de l'Institut de la rue Fusch. Il régnait dans ce réduit une chaleur d'étuve (27°), maintenue constante à 1/10° de degré près, en même temps qu'un haut pourcentage d'humidité. Ces conditions du milieu expérimental étaient indispensables pour ses travaux. Là, seul, patiemment, à moitié nu, des heures durant, heures qui se prolongeaient trop souvent jusque dans la nuit, mon biologiste s'acharnait à arracher à la nature une partie tout au moins de ses mystérieux secrets.

Léon était membre de la Société Royale de Botanique de Belgique, du Cercle de Botanique Liégeois, de la Société de Saint-Luc Médical, du Cercle des Sciences de Liége et de la Jeunesse Universitaire Catholique. Mon regretté fils était d'une assiduité remarquable aux réunions que tenaient régulièrement ces différents organismes.

Il fréquenta les laboratoires de l'Institut Botanique de l'Université de Liége d'octobre 1932 à mars 1939, le laboratoire de Biologie marine à Blankenberghe, sous la direction de M. le Professeur Damas, en 1935 et 1936. Il travailla à la Station scientifique des Hautes-Fagnes, au mont Rigi (Sourbrodt), en 1934, 1935 et 1936, dirigée par M. le Professeur Raymond Bouil-

lenne, à la Station zoologique Alfred Giard, à Wimereux (Pas-de-Calais), laboratoire de l'Université de Paris, dirigé par M. le Professeur Caullery, de la Sorbonne, en 1936 et 1937.

Mon fils s'intéressait tout autant à la Physiologie végétale qu'à la Systématique et à la Morphologie. Il avait entrepris et poursuivait de front plusieurs recherches, notamment sur les Algues, sur le pH des eaux des Fagnes, sur la croissance des racines, sur l'extraction de la Phycocyanine des Algues bleues, etc.

En janvier 1937, en la salle académique de l'Université de Liége, à l'occasion de l'hommage funèbre rendu au Professeur émérite Auguste Gravis (1), Léon prit la parole au nom des étudiants. Dans sa péroraison il affirma :

> Cher Professeur Gravis, ceux que vous avez suivis et guidés, encouragés et formés sont dans le deuil. Mais sachez que vos conseils et vos directives constituent pour eux de grandes et précieuses leçons qu'ils garderont jalousement.
> Comme vous, ils seront à l'avant-garde. Comme vous, ils auront le culte du Vrai et celui du Devoir... (2).

Léon, travailleur obstiné, était aussi le plus gai des compagnons quand il fallait se délasser. Il aimait correspondre dans les journaux estudiantins, tant sous son propre nom que sous l'un ou l'autre pseudonyme. Il ne lui déplaisait pas de manier l'ironie, mais c'était toujours une ironie de bon aloi et, en société notamment, celle-ci se cachait sous un aimable et franc sourire.

---

(1) M. Gravis avait été professeur de Botanique à l'Université de Liége et directeur de l'Institut et du Jardin Botanique jusqu'en 1927.

(2) Rapport sur la situation de l'Université de Liége pendant l'année académique 1936-1937, p. 45.

Mon fils faisait partie du comité de la vivante Association des Étudiants Catholiques. Il fut un collaborateur actif de leur journal « Le Vaillant », organe combattif et gai tout à la fois, philosophique un tantinet aussi. Il écrivait, en outre, dans « Le Carabin » (1), dans la « Revue de l'Association Royale des Étudiants en Médecine et Pharmacie » (A. R. E. M. P.), etc.

Doué d'une voix ample, au timbre harmonieux, déclamant avec aisance, notre universitaire devint membre de la Société dramatique « Les Compagnons de Saint-Lambert », de Liége, qui, sous l'avisée direction de M. le Professeur Nève de Mévergnies, connut des heures de succès mérité à travers ses tournées dans le pays.

Léon aimait, à la maison, d'interrompre pendant quelques minutes, mais souvent, son dur labeur et de jouer, sur son « Chappuy », un excellent violon qui avait appartenu à son grand-père paternel, quelques morceaux classiques ou quelques pages délicatement sentimentales.

> La musique classique me charme par sa grande pureté, sa fraîcheur, son fini et sa grande poésie,

écrivait-il (2).

Léon s'occupa activement de l'AUCAM (Academica Unio Catholicas adjuvans Missiones), organisme d'une très haute portée sociale s'il en fut. Il devint président de la section liégeoise.

> On ne pense pas assez, écrivait-il, qu'il est des centaines, pour ne pas dire des milliers, de sauvages auxquels nous ne sommes pas dignes de baiser les pieds (3).

---

(1) Organe mensuel, médical et littéraire de l'Association des Étudiants en Médecine et Pharmacie de l'Université de Liége.

(2) Pensées, 1932-1936.

(3) Pensées, 1932-1936.

Il était d'ailleurs resté en contact étroit avec l'un de ses anciens professeurs, le R. P. Indekeu de la Compagnie de Jésus, à Ranchi (Indes anglaises), avec qui il correspondait régulièrement, et qui lui citait, le 15 février 1938, le félicitant de ses heureuses fiançailles, ces lignes extraites d'une lettre d'André Portal, étudiant en médecine à Bordeaux, qui mourut au front en 1916 :

> Vivre, n'est-ce pas se donner, et se donner généreusement, le sourire aux lèvres? C'est le seul bonheur qu'ici-bas on soit sûr d'atteindre, car les autres, qu'il ne faut point attendre, Dieu les refuse parfois même à ses fidèles.

Apprenant son entrée à l'armée sous peu, le R. P. Indekeu continuait :

> ... In any case, you will have a large field for doing good and showing your metal. Yes, remain the « emballe » of your youth : that is the only picture I have of you, Léon, with a stone in his hand, ready to throw...

Nature d'élite, excellent fils, frère aimant, fiancé au cœur loyal et vibrant, doué d'une volonté réfléchie et tenace, Léon tendait de toute son énergie au but que, très jeune, il s'était juré d'atteindre :

> Tous les obstacles cèdent lorsqu'on croit à son destin et qu'on s'avance vers le but avec la volonté comme épée (1).
> La volonté est pour l'homme la plus grande force de réalisation qui soit (2).

Et encore :

> Pour réussir, deux conditions : avoir confiance en soi, marcher de l'avant sans faiblir (3).

(1) Pensées, 16 avril 1936.
(2) Pensées, 8 octobre 1934.
(3) Pensées, 13 octobre 1934.

L'ULTIME DÉPART

Et c'est grâce à cette indomptable volonté, toujours en éveil, que mon fils, malgré de complexes difficultés, inhérentes du reste à toutes les choses humaines, mena à bien ses absorbants travaux.

Appelé au service militaire le 31 mars 1938, Léon fut versé au 2e régiment de Chasseurs à pied à Charleroi. Il allait quitter Liége, la Cité Ardente, vivre loin de son cher laboratoire, dans une localité exclusivement, hélas ! industrielle. Le soir, mon cher soldat s'enfermait dans un coquet pied-à-terre, son « cot », et jusqu'au moment de regagner le quartier, il se retrempait dans la science pure.

Après la période réglementaire, Léon passa ses examens de sergent « C. S. L. R. » (candidat sous-lieutenant de réserve). Il fut nommé premier de sa promotion.

Il avait été désigné pour la compagnie des canons anti-chars, les C. 47, arme liégeoise admirable de robustesse et de précision.

C'est pendant son séjour à l'armée, où les heures de travail scientifique lui étaient, évidemment, jalousement comptées, que Léon mit au point la rédaction de la thèse qui devait lui obtenir le titre de Docteur en Sciences naturelles, avec, comme grade, la plus grande distinction.

Ses chefs militaires ne lui accordèrent pour en préparer la soutenance qu'un parcimonieux congé de quelques jours. Ce congé, combien mérité et si nécessaire cependant, nous paraissait à tous devoir être octroyé automatiquement et avec une saine compréhension...

Léon était libéré normalement le 30 août 1939, mais il ne put profiter que vingt-quatre heures à peine de ce congé « illimité ». La mobilisation était décrétée peu

après son retour, et le 1er septembre, mon fils, versé à la Ve D. I. avec le grade d'adjudant C. S. L. R., regagnait son unité en patriote ardent et résolu.

C'est à l'armée, toujours, qu'en décembre 1939 notre biologiste participa, au Ministère des Sciences à Bruxelles, au concours universitaire. Il obtint la première place et la médaille d'or (1) dans cette noble joute entre les universités de notre pays.

Il devait se marier en août 1940, avec Mlle Jeanne Fraipont, de Chênée, étudiante en pharmacie à l'Université de Louvain.

Un avenir vraiment ensoleillé s'avançait vers les fiancés, qui allaient affronter la vie, heureux et confiants. Léon ne tarderait pas à partir au Congo belge, à Yangambi (2), où sa compagne, sitôt son stage à Liége terminé, serait allée le rejoindre. Dans la brousse, auprès d'une jeune femme qui partageait ses aspirations, Léon aurait continué, plus tenace encore, ses patientes recherches.

La science pure à Liége servait à sa formation. Sous le ciel d'Afrique, il allait se livrer à cette science pure selon ses goûts, mais — on touche ici le côté pratique de ce patient labeur — cette science pure allait être profitable aux hommes et être féconde en résultats intéressants.

. . . . . .

10 mai 1940... « Cette fois c'est la catastrophe » (3).

En coup de tonnerre, en effet, éclate brutal, sournois, plus monstrueux, plus scientifique que jamais, un fléau qui englobe tous les fléaux : la guerre aveu-

---

(1) Reproduite p. XXIX.

(2) A Jangambi se trouve le laboratoire de Physiologie de l'Institut national pour l'Étude agronomique du Congo belge.

(3) Lettre de Léon à son père, le 12 mai 1940.

gle et cruelle qui, stupidement, s'acharne à détruire le patrimoine amassé par maintes générations patientes et laborieuses; la guerre, cette négation impie des valeurs morales et spirituelles, les seules vraies valeurs pour lesquelles tout homme, digne de ce nom, combat et meurt s'il le faut.

> La Guerre?... *écrit, angoissé, Léon, en pleine nuit, lors de la très chaude alerte du 24 septembre 1938*, se lève-t-elle contre tant de jeunesse? contre tant de vie? contre tant d'amour?
> La Guerre?
> N'a-t-elle pas satisfait ses instincts barbares?
> Arrière, spectre hideux, cracheuse de mitraille, guenille sanglante du sang de tant de jeunes!
> Du feu, du sang, des plaintes, des souffrances, des civières qui passent... Il y en a! il y en a!
> Des corps que l'on frôle en passant.
> Est-ce Dieu qui se venge? Fallait-il l'holocauste de cette vieille Europe pourrie... Deux pensées en une seule : Papa... mon Aimée...

Croisé sans peur et sans reproche, en soldat, Léon gagne, aux heures dramatiques du 10 mai 1940, le front de bataille.

Il me fait parvenir les lignes suivantes dans lesquelles se révèlent — martiales — la grandeur d'âme du patriote, la noblesse du savant, du fils, du fiancé :

> Je suis fermement décidé à faire mon devoir, tout mon devoir. C'est farouchement que je veux défendre notre sol et notre culture, tout aussi bien que mes affections... J'espère qu'il me sera possible de faire... du bon ouvrage...

Je ne puis m'empêcher de mettre sous les yeux du lecteur une page sobre, mais combien glorieuse et émouvante, d'un réserviste, sergent de mon fils, M. G. Drion, de Châtelet, que je remercie d'avoir spon-

tanément, à moi qu'il ne connaissait même pas, envoyé ce fidèle récit :

> Septembre 1939... Mai 1940. Huit mois de mobilisation devaient précéder l'affreuse tourmente et me faire connaître l'Adjudant Delarge, votre regretté fils, dans toutes ses qualités d'intelligence et de bonté.
> C'était un chef, sans doute, nous le respections, mais aussi c'était un ami et nous l'aimions.
> Plus particulièrement, je dirai que mieux que n'importe qui à la compagnie, à part quelques collègues de la même classe, j'ai apprécié sa sympathie et ses talents de chef, sa justice et son impartialité au cours de la dure année 1939-1940, au hasard de tous les cantonnements.
> Brutalement, le 10 mai, nous entrions en guerre. Dès les premières heures avec le Lieutenant, chef de peloton, l'Adjudant ne manqua point de cran, et tous, sous-officiers et soldats, nous étions rassurés avec lui et sentions en lui un vrai conducteur d'hommes.
> Nous quittions Goyck le 10 mai, pour aller prendre position à Rymenam, où nous étions unité de réserve. La nuit du 11 au 12, nous progressions vers Thildonck. Deux jours se passent derrière le canal de Louvain. Une section de C. 47 est portée en avant du canal et a pour mission de défendre des éléments de barrières anti-chars.
> S'il a fallu réconforter le personnel des pièces qui allait subir le choc, c'est l'Adjudant qui y est allé, et la nuit où il a fallu quitter la position, au contact de l'ennemi, c'est toujours lui, bravant le danger, qui attendait le passage du dernier soldat.
> La retraite commença et d'étapes en étapes nous gagnions la Lys, Thildonck, Grimbergen, Merktem.
> La V^e^ D. I. se repliait. L'Adjudant Delarge fut mandé pour assurer le commandement d'une section de C. 47 en arrière-garde mobile, à partir de Merktem, avec l'escadron cycliste divisionnaire. Là encore nous avons apprécié son sang-froid et sa bravoure.
> C'est alors qu'il vit le premier blindé ennemi, et, pris en difficulté avec son matériel, sous le feu de l'adversaire, il dut l'abandonner. Malgré tout, grâce à un

camion automobile, il échappa au danger ainsi que ses hommes et passa le dernier, encore une fois, quelques minutes avant que sautât le pont d'Alost.
De laides heures venaient de se passer pour notre section.
La nuit suivante, à Munte et à Nazareth, nous subissions un bombardement aérien, et le lendemain, à Zomerhoven, nous passions en réserve de D. I. pour quelques jours.
Dépourvus de nos canons, il nous restait notre arme personnelle. Nous étions alors attachés au poste de commandement du 1er bataillon du 4e Chasseurs à pied. Le bataillon était à ce moment au front d'Aerseele (26 mai), en renfort du 5e Chasseurs ardennais (IV. D. I.). L'ennemi s'avançait et avait enfoncé la 2e Compagnie; le Major commandant le bataillon commanda le personnel C. 47 et ses T. S. en renfort de sa Compagnie enfoncée.
Vers 13 heures, le 27, nous parvenions en première ligne, et jusqu'à 16 heures nous étions au combat.
A la fin du combat une balle meurtrière toucha l'Adjudant à la poitrine. Il fut secouru et aidé par les sergents Noël (prisonnier) et Radelet (prisonnier également).
Quelques secondes plus tard, comme je quittais l'Adjudant, je subissais son sort. Une balle de mitraillette également me transperçait et me fracturait la cuisse.
Le combat terminé, nous étions relevés par le service de santé allemand et recevions les premiers soins sur le terrain.
C'est à ce moment que prit fin notre vie commune.
Transporté au poste de secours d'Overghem, je m'informai de son état et personne ne put me répondre. Nous ne sommes restés là que peu de temps. Quelques jours après, j'étais à l'hôpital militaire de Gand, tandis que l'Adjudant avait été évacué sur un autre lazaret. Hélas! je ne devais plus le revoir. Il avait donné sa vie pour la Belgique.
Un an d'étroite amitié venait de se briser brutalement. Toujours, cependant, son souvenir nous restera vivace. Impossible d'oublier un ami qui, chaque jour de guerre, partageait les mêmes dangers.

Nous l'avons trop bien connu, trop apprécié et trop aimé. Il était bon, il était juste, c'était un patriote.
Il n'a jamais hésité devant le Devoir. Jusqu'au moment où une balle le coucha à nos côtés, il nous commanda et nous dirigea en bon chef.
Souvent, il nous répétait : Nous allons à la boucherie, et toujours avec un entrain patriotique, il nous réconfortait et nous partions.

Monsieur Delarge, votre fils est tombé au champ d'honneur. Il porte la couronne émouvante du Héros.

Mon Cher Léon, je t'adresse un suprême et cordial adieu.

Léon a tenu à mettre en pratique, dans cette campagne qui ne fut qu'une décevante retraite, l'une de ses profondes pensées : « Le propre de l'Idéal est de se dresser plus grand et plus sublime dans les revers » (1)... Et le 27 mai, dans les sanglants combats de la Lys, près d'Aerseele (2), alors que s'achevait la plus meurtrière des batailles de la campagne belge, quelques heures à peine avant la reddition de notre courageuse armée, Léon, blessé soudain mortellement en pleine poitrine par une balle de mitraillette qui lui sectionna la colonne vertébrale, s'affaissait face à l'ennemi.

Il venait de réaliser une fois de plus, et avec quel héroïsme stoïque, la poursuite d'un idéal, sublime aussi celui-ci, la défense « farouche » d'un sol sacré.

Malgré ses atroces blessures, Léon fut conduit d'hôpital en hôpital. Finalement, mon pauvre blessé, épuisé, était amené au « Refuge de Marie », à Gand, où allait s'achever pour lui... et pour toujours, le rude calvaire de ces dix-huits jours.

---

(1) Pensées, 23 juin 1933.
(2) Aerseele, en Flandre occidentale, à 7 km. de Thielt.

Il fut soigné au Refuge par une admirable infirmière bénévole, M^lle^ Simone Kuhnen, de Gand, à qui je me plais à dire dans ces notes un reconnaissant merci.

Lui faisant récemment hommage d'un portrait de mon fils, M^lle^ Kuhnen m'écrit (1) :

> Sur cette photo je retrouve le sourire de Léon, ce sympathique sourire qui, malgré les malaises et l'épuisement, refleurissait si vite sur ses lèvres, à la moindre bonne parole, à la plus petite attention, et qui, quelques heures à peine avant la mort, éclairait encore son pauvre visage ravagé.
> C'est pour vous une grande consolation que de penser qu'il est jusqu'au bout resté lui-même, courageux et calme, fidèle à son idéal de Belge et de Chrétien.

Peu de temps avant de rendre sa belle âme à Dieu, mon courageux Léon priait cette dévouée jeune fille de bien vouloir écrire quelques lignes qu'il lui dicterait, tant pour sa fiancée, « qu'il désespérait de revoir » (2), que pour moi-même.

C'est le cœur d'un preux qui lance à ceux pour lesquels il vient de consentir le suprême sacrifice, un appel tout vibrant d'espoir. Léon ne voulait pas que nous fussions anxieux. « Il ne faut pas les inquiéter, n'est-ce pas ? » (3), affirmait-il à M^lle^ Kuhnen, qui s'étonnait de ses trop confiants messages.

Après la dictée de ces lignes, très courtes cependant, mais où réellement débordait l'affection d'un fils et d'un fiancé, Léon parut soulagé, heureux même, et d'un gentil sourire il remercia son attentive infirmière.

---

(1) Le 6 janvier 1941.
(2) Lettre à M^lle^ Fraipont du 31 mai 1940.
(3) Lettre de M^lle^ Kuhnen à moi-même du 5 octobre 1940.

Quelques heures après, en homme « Esto Vir » et en pleine lucidité d'esprit, Léon, qui venait de recevoir les derniers sacrements, prononça ces paroles qui furent ses toutes dernières : « Jésus, je vous donne ma vie ». En catholique convaincu et soumis, il ponctua lentement, mais avec force, le mot « donne », ce mot de définitif et total abandon.

Le 31 mai, vers 17 heures, au crépuscule d'une éclatante journée de printemps, Léon..., à 26 ans, entrait sans souffrance dans son éternité.

> Je voudrais vivre comme une fleur, ÉCRIVAIT-IL DANS SES « PENSÉES », être douceur, innocence, espérance, faire du bien et mourir enfin après l'été, doucement..., sans regret...

C'est ainsi que pieusement s'éteignit, loin de sa Cité Ardente, loin de ses solides affections, loin de ses passionnantes recherches et de ses chers et précieux livres, mon admirable fils..., en mai, le mois du renouveau et des espoirs, le mois des lilas odorants et des muguets au suave parfum; en mai, ce mois qui fut de tout temps, pour ma famille éprouvée, la période des cruels et irréparables deuils.

Avec une grande modestie et « le sourire aux lèvres », Léon — ce m'est une douce consolation et une fierté — a réalisé, sans jamais faiblir, la voie que noblement il s'était tracée :

> Souviens-toi que tu t'es donné au Christ, que tu lui as consacré ta plume et ton intelligence.
> Souviens-toi que tu as promis de lutter, de travailler et de vaincre.
> Souviens-toi de la douceur et de la pureté de ta Maman.
> Souviens-toi que tu veux être apôtre et rayonner ta Foi.
> Si tu es un homme, tu parviendras.
> Il faut vouloir. Crois, espère. Dieu fera le reste.

Au moment où, ému, je terminais ces quelques notes sur un fils qui, comme son frère, ne m'a donné que des joies, un texte de Léon, texte que j'ignorais, m'est tombé sous les yeux :

> Au nom de ta Maman, qui, Là-Haut, te regarde, marche droit ton chemin vers la Vérité, vers la Bonté, vers la Beauté, c'est-à-dire vers l'Idéal, je veux dire vers Dieu.

. . . . . .

Mon « Credo » l'atteste, dans son Ciel de lumière et de gloire, le Bon Dieu, maître absolu des pauvres choses que sont les hommes, aura découvert à mon chercheur obstiné, à ce soldat d'élite qui le servit si bien tout en servant la Science et la Patrie, le pourquoi des merveilles pour lesquelles, huit années durant, mon biologiste scruta, ravi, d'infimes parcelles de leurs si captivants mystères.

GEORGES DELARGE.

Au moment où sort de presse la publication qui constitue le couronnement de la carrière scientifique de mon fils, je me fais un devoir d'adresser à Monsieur Raymond Bouillenne, Directeur de l'Institut et du Jardin de Botanique de Liége, Professeur de Physiologie végétale et de Phytogéographie, ainsi qu'à tous ses collaborateurs, un reconnaissant merci.

Je sais, en outre, gré à Monsieur le Professeur Bouillenne d'avoir continué, en gage de la haute estime dans laquelle il tenait mon jeune homme, à s'intéresser à son œuvre, notamment en assumant personnellement la lourde tâche de mener à bonne fin le présent travail.

GEORGES DELARGE.

ÉTUDE

DE LA

CROISSANCE ET DE LA RAMIFICATION DES RACINES *IN VITRO*

INTRODUCTION.

Le problème de l'apparition de racines sur un organe végétal quelconque, racine, tige, feuille, pétiole, a depuis longtemps retenu l'attention des chercheurs. La pratique de la propagation par bouturage est d'ailleurs des plus anciennes.

Mais l'étude fondamentale de la question, c'est-à-dire du mécanisme de l'apparition des racines nouvelles sur un membre végétal et aux dépens de tissus déjà différenciés, est assez récente.

Sachs (1882) fut l'un des premiers à émettre l'hypothèse suivant laquelle, en dehors des facteurs de nutrition, des substances formatrices spéciales (de la nature des ferments) interviendraient dans la promotion des structures radiculaires. Sachs concevait que « les différences morphologiques entre les organes » des plantes sont dues à des différences correspon- » dantes dans leur composition matérielle, diffé- » rences qui doivent déjà être présentes, au moment » de l'initiation, même si à ce stade nos investiga-

» tions chimiques et autres méthodes trop grossières » ne marquent aucune différence ».

En 1905, Kupfer, dans une belle série d'expériences, reprend, pour la défendre, la théorie des substances formatrices de Sachs, théorie qui était fortement combattue par Goebel et son école.

On trouvera dans deux monographies récentes : « Growth Hormones in Plants » de Boysen-Jensen, et « Phytohormones » de Went et Thimann, une bibliographie complète des travaux qui ont traité de ces substances spéciales appelées aujourd'hui hormones.

On se rendra compte en consultant cette abondante littérature que la plus grande partie des travaux sur la question de l'apparition et de la croissance des racines en rapport avec la théorie des substances spécifiques (hormones ou vitamines) ne remonte guère à plus de vingt ans.

La production *de novo* de racines sur un organe quelconque a été attribuée par Bouillenne et Went (1933) à un facteur spécifique, formé dans les feuilles et mis en réserve dans les graines; ces auteurs l'ont appelé rhizocaline.

Dans la suite, Went et Thimann (1934), en cherchant à isoler la rhizocaline, ont isolé une substance identique à l'auxine. Puis Kögl et ses collaborateurs (1934) montrèrent que l'hétéroauxine de synthèse et plusieurs de ses éthers, appliqués en fortes concentrations, provoquent l'apparition, sur certaines plantes, de nouvelles racines en quantité considérable.

On en a donc conclu, avec logique, à l'identité de l'auxine et de la rhizocaline (Went, Congrès International de Botanique, Amsterdam, 1935).

De nombreux corps homologues supérieurs de l'hétéroauxine (ac. indol.-propionique-butyrique et

leurs éthers) et autres chaînes cycliques (Zimmerman et collaborateurs [1936-1938]; Laibach [1933-1938]) donnèrent des résultats similaires.

A plusieurs reprises, cependant, R. Bouillenne (1935-1937-1938), se basant sur des recherches effectuées dans ses laboratoires, persistait à distinguer dans la néoformation radiculaire deux processus distincts :

1° Activation mitotique de tissus différenciés par les auxines ou par certains produits synthétiques appliqués en doses réactionnelles, ou encore par l'effet d'agents physiques (chaleur, etc.);

2° Orientation de la différenciation de ces nouvelles cellules en structures de racines, de bourgeons, de fleurs ou même en simples gonflements non différenciés, selon des propriétés cellulaires qui seraient dues à des facteurs spéciaux, à des organisateurs de structures.

Nous sommes ainsi en présence d'un problème essentiel qui reste entier : Existe-t-il chez les végétaux des facteurs responsables de l'embryogenèse et de l'organogenèse; existe-t-il des **organisateurs,** comme Spemann en a prouvé l'existence par les expériences les plus captivantes de l'embryologie animale expérimentale?

Les auxines ne suffisent pas à expliquer, comme beaucoup d'auteurs l'avaient d'abord pensé, la néoformation des racines. C'est ce que nous enseignent les récentes expériences de Went et Thimann (1937), de Cooper (1935-1937), de R. et M. Bouillenne (1938). Went (1937-1938) écrit, à la suite d'expériences sur des plantules étiolées de Pisum, qu'il

existe, pour la production des racines, un facteur limitant autre que l'auxine; il affirme que : « without this factor, no root formation is possible » (1938, p. 73). Selon Went, le rôle de l'auxine serait d'activer la rhizocaline présente dans la plante et d'entrer en combinaison avec elle pour promouvoir l'organisation des structures radiculaires.

La rhizogenèse serait ainsi, d'après les derniers travaux, un phénomène s'accomplissant en plusieurs phases, un phénomène régissant la mise en action de plusieurs facteurs.

Le problème s'avère donc d'une fort grande complexité.

Il est difficile à résoudre pour qui se sert du matériel d'étude utilisé jusqu'à présent. Précédemment on a fait usage de plantes entières et de boutures exposées, en général, à la lumière du jour (Zimmerman et ses collaborateurs, etc.) ou bien de plantules (hypocotyles inanitiés de Bouillenne, plantules étiolées de Went, etc.). Or, semblable matériel, surtout les boutures et les plantes entières, fait intervenir au cours des expériences un ensemble de phénomènes trop complexes pour qu'il soit possible d'en déduire les précisions suffisantes au sujet d'un seul mécanisme *intime, celui de la rhizogenèse.*

Il fallait trouver un matériel qui simplifiât à l'extrême les conditions des expériences.

C'est ce que nous avons recherché. Nous avons décidé — pour la première fois, à notre connaissance — d'entreprendre l'étude de la rhizogenèse **sur les racines elles-mêmes.** (Au fait, n'est-ce pas logique d'étudier la néoformation des racines sur les racines, avant de l'étudier sur les tiges, les bourgeons, les feuilles, etc. ?)

Ces racines, **nous les avons cultivées** *in vitro*, indépendamment de la plante mère. On sait qu'il est possible, actuellement, de réaliser des cultures aseptiques d'organes végétaux isolés. Avec un peu d'habileté on obtient la croissance de pointes radiculaires; ces pointes se transforment bientôt en racines longues et ramifiées.

En faisant nôtre la technique récente de la culture des racines isolées nous pouvions ambitionner :

1° Partir d'un matériel simple, possédant, au départ, un potentiel de développement bien défini et qui ne serait pas remanié, dans la suite, par l'activité métabolique du végétal entier;

2° Eliminer l'influence considérable que la lumière exerce sur les organes verts : éliminer les synthèses qui en résultent;

3° Travailler dans des conditions de substrat et de milieu rigoureusement contrôlées.

Nonobstant cette simplification des conditions expérimentales, résultant du choix d'un matériel mieux approprié, nous nous trouverons encore devant des faits d'une grande complexité. Mais grâce à l'emploi de la technique récente de la culture des racines isolées et malgré les inconvénients qu'elle présente, nous espérons pouvoir apporter quelques précisions intéressantes concernant le problème de la rhizogenèse, c'est-à-dire le problème de la formation, de la croissance et de la ramification des racines.

Voici, en résumé, le plan de notre travail :

Dans une *Etude critique de la Littérature* nous brosserons rapidement l'historique de la culture des

racines isolées. Nous y verrons qu'il n'est pas possible d'extraire des résultats acquis jusqu'ici les renseignements susceptibles de nous donner une vue même très générale de la rhizogenèse; il va falloir reprendre à la base et à notre point de vue l'étude du développement des racines isolées.

Nous établirons ensuite une *technique* appropriée. En raison des contradictions relevées dans les travaux des auteurs et des résultats hétérogènes que donne la culture des racines isolées, il est essentiel de travailler dans des conditions strictement standardisées (ce qui n'a pas toujours été le cas précédemment). Nous adopterons, de plus, une méthode d'observation scrupuleuse et détaillée.

L'exposé de nos résultats se subdivise en deux parties.

Première partie. — C'est l'étude préliminaire du développement des racines, *in vitro*.

Dans le premier chapitre, où nous préciserons l'importance des facteurs, éclairement et aération des cultures, nous insisterons sur l'hétérogénéité des résultats au sein d'une même expérience et nous justifierons l'emploi de la méthode que nous avons préconisée.

Au deuxième chapitre, nous verrons, dans le détail, comment ont cru et se sont ramifiées les racines isolées en milieu minéral glucosé, milieu considéré comme déficient par les spécialistes (résultats après un mois de culture).

Nous verrons ensuite (chap. III) comment les racines se sont comportées en solution minérale glucosée additionnée d'extrait de levure, c'est-à-dire en milieu réputé complet (après un mois de culture).

Enfin (chap. IV) nous envisagerons spécialement la marche de l'allongement et de la ramification des racines isolées, pendant toute la durée de la culture (racines cultivées en milieu déficient et en milieu complet).

Deuxième partie. — Sur la base des observations faites dans la première partie, nous pourrons entreprendre — et maintenant seulement — l'étude elle-même de la rhizogenèse. A cet effet nous utiliserons des solutions minérales glucosées additionnées d'hétéroauxine, cette substance rhizogène par excellence, selon l'opinion de beaucoup d'auteurs.

Ce travail que nous présentons aujourd'hui, commencé en octobre 1936, a été terminé en mars 1938. Par suite de diverses circonstances la publication en a été considérablement retardée (1). Il constitue une contribution à une série d'études sur les phénomènes d'organogenèse chez les Angiospermes, dans le cadre général des recherches exécutées à l'Institut de Botanique de l'Université de Liége, au Laboratoire de Physiologie végétale (professeur R. Bouillenne).

---

(1) Nous avons déjà publié trois notes succinctes; voir Bibliographie, Delarge, L., 1938, 1938 et 1939.

LITTÉRATURE.

On sait (1) que c'est à un botaniste, G. Haberlandt (1902), que revient l'idée de cultiver, en laboratoire, des cellules et des tissus isolés d'un organisme. Malheureusement, les nombreux efforts que tentèrent ce savant et son école, de même que plusieurs autres chercheurs, pour obtenir la prolifération de cellules et de tissus végétaux isolés, ont été voués à l'échec; tout au moins ils n'ont abouti qu'à une survie plus ou moins prolongée des cellules sans nulle manifestation de phénomènes mitotiques. De ce fait, la culture des tissus animaux, que R. Harrison entreprit seulement en 1907 et qu'A. Carrel (et ses collaborateurs) et A. Fischer mirent définitivement au point (respectivement à partir de 1911 et de 1922), se trouve être incomparablement plus avancée aujourd'hui que celle des tissus végétaux.

En botanique, des résultats positifs ont été acquis à partir du moment où l'on s'est attaché, non plus à la culture de *cellules*, ou de *tissus adultes*, mais bien à la culture de tissus à caractère *embryonnaire* tels que pointes radiculaires, cambiums et méristèmes. C'est ainsi que depuis 1922, mais particulièrement au cours des cinq dernières années, de très grands pro-

---

(1) On consultera, pour plus amples détails, la belle étude de P.-R. White, Plant tissue cultures. The history and present status of the problem (*Arch. Exp. Zellf.*, X, 1931, p. 501), de même que le « Sammelreferat » de Fiedler, Die Pflanzliche Gewebe- und Organkultur (*Zeitschr. Bot.*, XXXIII, 1938, p. 369).

grès furent réalisés. Si bien que les auteurs ont réussi à établir la composition de substrats essentiellement synthétiques au sein desquels les racines isolées de diverses espèces peuvent être cultivées *in vitro* indépendamment de la plante mère et d'une manière indéfinie.

A ce point de vue, la technique des botanistes a maintenant devancé celle qu'on utilise dans la culture des tissus animaux. Pour ces derniers, en effet, il n'a pas encore été possible — à notre connaissance — de réaliser des milieux intégralement synthétiques, permettant la prolifération normale et ininterrompue des inoculums.

White P. R. (1931 et 1936), Scheitterer H. (1931) et Gautheret R. (1935 et 1938) ont publié de remarquables études historiques sur la culture des tissus végétaux. Nous y renvoyons le lecteur. Mais, vu le nombre et l'importance des faits nouveaux découverts ces derniers temps dans la culture des racines et des méristèmes radiculaires isolés, il ne sera pas inutile de discuter un moment les résultats observés jusqu'à ce jour dans cette voie. Un exposé suffisamment complet de la question manque actuellement, d'autant plus que les auteurs sont souvent en désaccord.

Nous allons donc parcourir brièvement les travaux qui ont eu pour objet la culture *in vitro* des racines isolées. Nous nous sommes arrêté à la seconde moitié de l'année 1938 exclusivement.

Nous donnerons tout d'abord un rapide aperçu historique des principaux progrès accomplis depuis 1921(I). Pour être complet, nous ferons ensuite l'analyse des multiples faits que mentionne la littérature concernant les conditions de culture (II). Enfin, nous

envisagerons un point de vue qui a particulièrement retenu notre attention, à savoir la variabilité de comportement des racines au cours des expériences (III). Ce phénomène déconcertant n'a intrigué que quelques auteurs; il a servi de point de départ, en 1936, au travail que nous présentons aujourd'hui.

I. — APERÇU HISTORIQUE.

En 1921, une courte note de M. Molliard signale la possibilité de croissance, en présence d'une solution Knop N/5 glucosée, de racines embryonnaires de *Raphanus sativus*, isolées de l'embryon. Mais ce sont les résultats de Kotte W. (1922) et de Robbins W. J. (1922) qui constituent la base de toutes les recherches ultérieures sur la culture *in vitro* des racines isolées.

Kotte W. (1922) rapporte que des extrémités radiculaires de *Pisum sativum* et de *Zea Mays* sont capables de se développer en laboratoire et de donner naissance à des tissus différenciés, à condition qu'on leur donne comme substrat une solution minérale (Knop) et un sucre. Diverses concentrations de peptone, d'asparagine ou d'acides aminés améliorent le rendement des cultures. De tels fragments se comportent comme si l'on avait affaire à des racines normales, attachées à la plante.

Robbins W. J. (1922) observe semblable croissance de racines isolées de *Pisum sativum*, *Gossypium* et *Zea Mays* dans une solution de Pfeffer modifiée, additionnée de glucose ou de lévulose. Dans ce milieu, la croissance du même méristème terminal ne se prolonge pas au delà d'une période de six semaines, malgré transplantation du méristème et renouvellement de la solution tous les quinze jours.

L'addition au substrat, de peptone ou d'extrait de levure autolysée favorise la croissance des racines de *Zea Mays*, sans cependant en permettre le développement pendant plus de 8 à 12 semaines.

En 1923, Robbins W. J. et Maneval W. E. s'efforcent vainement d'améliorer le milieu de culture. Les extraits de graines, de plantules, d'endosperme, etc. de *Zea Mays* n'exercent aucun effet ou sont toxiques pour les racines de la même plante. Ces auteurs peuvent réaliser le développement des racines de *Medicago sativa, Triticum vulgare, Helianthus annuus, Linum usitatissimum, Sinapis* sp. dans les conditions décrites pour celles de Maïs. Mais les essais effectués avec *Raphanus sativus, Fagopyrum esculentum* et *Nasturtium* sp. sont négatifs.

Jusqu'en 1932, aucune amélioration importante n'est apportée dans la technique des cultures de méristèmes radiculaires.

White P. R. (1932 et 1933), se basant sur les données de Robbins W. J., cultive des extrémités radiculaires de *Triticum vulgare* en employant comme solution de base celle d'Uspenski et Uspenskaia additionnée de glucose et d'extrait de levure autolysée. Nous trouvons chez White un soin scrupuleux de travailler dans des conditions rigoureusement établies; il emploie des produits purissimes, recherche l'influence des anions et cations minéraux, de la température, du pH, de l'aération, etc., sur le comportement de ces racines. En 1934, ses efforts sont couronnés d'un fort beau succès, que les résultats acquis jusqu'alors ne laissaient guère entrevoir : White parvient à permettre *in vitro* la croissance pratiquement illimitée des racines isolées de *Lycopersicum esculentum* dans une solution minérale spécialement adaptée

avec, en supplément, 2 % de saccharose et de l'extrait de levure. Les cultures cloniques (dérivant de fragments de la même racine isolée initiale) entreprises à cette époque se sont maintenues en excellentes conditions jusqu'aujourd'hui (1). La simplicité relative du substrat laisse espérer la connaissance prochaine de tous les constituants nécessaires et suffisants pour la croissance indéfinie des racines, indépendamment de la plante mère. Un seul des constituants est de formule inconnue : l'extrait de levure. Quelle en est la composition et quels produits synthétiques pourrait-on lui substituer? Tel est le problème qu'il reste à résoudre.

Vers la même époque, cependant (1932 à 1935), Gautheret R. réussit la culture des racines de *Zea Mays*, *Lupinus albus*, *Triticum vulgare*, *Lupinus luteus*, *Helianthus annuus*, *Raphanus sativus*, *Hordeum vulgare* et *Pisum sativum*, mais ne peut en observer le développement illimité; par exemple, pour les racines de Maïs, la croissance peut se prolonger pendant un temps variant de 40 jours à 6 mois, mais finit toujours par cesser brusquement. Fiedler H. (1936) confirme ce résultat pour les racines de *Zea Mays*, malgré des repiquages successifs; la croissance diminue progressivement pour atteindre une valeur nulle après 8 semaines en solutions, et après 16 semaines sur substrat agarisé.

---

(1) Cette croissance illimitée nous rappelle immédiatement les cultures de fibroblastes du cœur d'embryon de poulet, qu'A. Carrel a maintenues en vie pendant un quart de siècle. Nous pouvons légitimement penser que les clones de P.-R. White atteindront aisément un âge aussi respectable (voici quatre ans déjà qu'ils prospèrent en culture). Signalons, en passant, que les cultures de Carrel sont des cultures de tissus; celles dont il est question ici, des cultures d'organes constitués de divers tissus.

En 1936 et 1937, Robbins W. J. et White V. B. se livrent spécialement à l'étude de la limitation de la croissance des racines de Maïs. Ils constatent de nouveau que si l'addition au milieu, d'agar, d'extrait d'agar, de papier filtre, d'extrait de papier filtre, d'empois d'amidon, de levure et d'extrait de levure, d'acide pantothénique, d'extraits de racines et de plantules, améliore le rendement des cultures, la croissance des racines n'en cesse pas moins à un moment donné.

La découverte des milieux de culture intégralement synthétiques est rapportée en 1937 par Bonner J. et Addicott Fr. et par White P. R., puis en 1938 par Robbins W. J. et Bartley Schmidt M.

Bonner et Addicott utilisèrent, pour les racines de Pisum, une solution minérale, du saccharose, un mélange d'amino-acides et, enfin, de la vitamine B_1.

White P. R. (1937) provoqua la croissance illimitée des racines de *Lypopersicum esculentum* en présence de sels minéraux indispensables et accessoires, de saccharose, de vitamine B_1 et d'amino-acides: cependant, le rendement des cultures était un peu inférieur à celui des racines cultivées dans l'extrait de levure.

Robbins W. J. et Bartley M. (1937, *a* et *b*) et Robbins W. J. et Bartley Schmidt M. (1938) obtiennent les mêmes résultats que White P. R. en travaillant aussi, cette fois, sur *Lycopersicum*. Selon eux, la vitamine B_1 peut être remplacée par l'un de ses intermédiaires de synthèse, le 4-méthyl-5-hydroxyéthylthiazol.

On voit le sérieux avantage réalisé, dès ce moment, sur la technique de culture des tissus animaux. Pour ces derniers, les substrats courants présentent une complexité extrême; ils sont, en général composés de

plasma sanguin comme phase solide et d'extrait embryonnaire de poulet comme phase liquide.

Enfin, en 1938, la liste des plantes dont les racines peuvent être cultivées *in vitro* s'enrichit notablement.

White P. R. (1938) remarque que dans les conditions établies pour la culture des racines de *Lycopersicum* les racines de *Raphanus sativus*, *Brassica nigra*, *Medicago sativa*, *Trifolium repens*, *Trifolium pratense*, *Vicia* sp. et *Petunia violacea* croissent aussi bien, voire mieux que celles de la Tomate. Celles de *Fagopyrum esculentum*, *Melilotus alba*, *Glycine soja*, *Daucus carotta*, *Apium graveolens*, *Datura stramonium*, *Nicotiana tabacum*, *Nicotiana langsdorfii*, *Helianthus annuus*, *Cichorium* sp. et *Callistephus sinensis* manifestent une bonne croissance, mais moins rapide que celle des précédentes. Les racines de *Beta vulgaris*, *Brassica oleracea* (div. var.), *Lupinus* sp., *Solanum tuberosum* et *Solanum melongena*, *Nicotiana silvestris*, *Nicotiana glutinosa*, *Nicotiana rustica*, *Cucumis sativus* et de *Lactuca scariola* se sont montrées réfractaires à la culture.

Galligar G. a orienté le problème dans une voie nouvelle (1938). Cet auteur constate qu'il existe une certaine relation entre les possibilités de croissance, *in vitro*, des racines et la nature des réserves dont elles proviennent. Les racines dont les graines sont riches en amidon (ex. *Zea Mays*) se cultivent aisément. Celles dont les graines sont riches en protéines (ex. *Pisum sativum* et *Soja hispida*) se développent plus difficilement. Celles, enfin, dont les réserves sont oléagineuses (ex. *Helianthus annuus*, *Gossypium barbadense*, *Ricinus zanzibarensis*), se comportent de manière variable.

Tels sont les résultats généraux importants que

nous livrent les travaux publiés jusqu'à ces derniers temps et où dominent les noms de Robbins W. J. et de White P. R. Ils se résument en trois points essentiels .

1° On est parvenu à cultiver indéfiniment *in vitro* les racines isolées de diverses espèces végétales;

2° Il a été possible d'établir un milieu complètement synthétique relativement simple au sein duquel les racines isolées peuvent manifester un développement pratiquement illimité;

3° Les racines de plusieurs espèces paraissent, dans les conditions actuelles, incapables de se développer isolément *in vitro* ou tout au moins d'y manifester une croissance illimitée.

Ce dernier point est assurément digne d'intérêt. Concernant les racines de *Zea Mays*, Robbins W. J. (1923) émit l'hypothèse que le repiquage successif du même méristème provoquerait la dilution d'un facteur interne à la racine et indispensable à la croissance de celle-ci. En effet, la valeur de la croissance totale des racines dont le méristème terminal n'a pas été repiqué est plus élevée que celle des racines dont on a transplanté plusieurs fois le méristème.

Gautheret R. (1935) conclut que la limitation de la croissance n'est due ni à l'épuisement des substances du milieu, ni à l'accumulation dans celui-ci de matières toxiques secrétées par la racine. Il faudrait en rechercher la cause dans l'absence de substances nécessaires à la croissance et existant dans les plantules; elles seraient irremplaçables, les racines isolées ne pouvant les synthétiser.

A cela s'ajoute une constatation intéressante de

Robbins W. J. et Bartley Schmidt (1938). Les pointes radiculaires de *Lycopersicum* prélevées sur les plantules ont toujours manifesté un meilleur développement que les fragments prélevés sur ces racines isolées, au cours des repiquages successifs. Et pourtant les inoculums initiaux étaient plus petits que les suivants. Quoique la croissance se poursuive de manière indéfinie, il semble bien que les fragments provenant de la radicule possèdent un « matériel » qui favorise leur croissance et que les constituants du milieu de White P. R. ne peuvent remplacer en quantités suffisantes.

Cette opinion, qui fait intervenir des substances irremplaçables, n'est partagée ni par White P. R. (1934 et 1938) ni par Bonner J. et Addicott (1937). Ces auteurs suggèrent que le substrat employé ne conviendrait pas aux racines qui semblent réfractaires à la culture, mais pour lesquelles un développement illimité sera vraisemblablement réalisé lorsqu'on aura découvert les milieux adéquats.

Plusieurs résultats, d'ailleurs, semblent de nature à confirmer cette dernière hypothèse. Les racines isolées de *Pisum* n'ont pu être cultivées de manière satisfaisante par Kotte W. (1922) et Robbins W. J. (1922), alors que Bonner J. et Addicot (1937) en réalisent la croissance pratiquement indéfinie. Il en est de même pour celles de *Raphanus sativus* que Gautheret (1935) et White P. R. (1938) trouvent particulièrement intéressantes et avec lesquelles Robbins et Maneval (1923) n'obtiennent que des résultats négatifs. Les essais de culture des pointes radiculaires de *Fagopyrum* et de *Lupinus* ont été tout aussi contradictoires.

II. — LES CONDITIONS DE CULTURE DES RACINES ISOLEES.

L'examen comparatif des différents milieux et de leurs constituants, de même que l'étude de l'influence de la température et de la lumière, ne sera pas inutile car une grande confusion règne malheureusement dans ce domaine.

1. Les constituants du substrat.

Pour obtenir une croissance normale et satisfaisante des racines isolées, quelle qu'en soit l'espèce végétale, rappelons que les auteurs sont unanimes à reconnaître la nécessité de la présence, dans le substrat, de trois constituants indispensables :

a) Une solution minérale;

b) Un aliment sucré;

c) Des substances additionnelles, contenues dans l'extrait de levure de bière autolysée.

La suppression de l'un de ces constituants a pour effet l'arrêt plus ou moins immédiat de la croissance ou un développement insuffisant (White P. R. [1932]; Robbins W. J. et Bartley Schmidt [1938]; Gautheret [1935]) (voir tableau 1).

a) Solution minérale. — Diverses combinaisons de sels minéraux ont été utilisées par les auteurs pour la culture des racines isolées. On trouvera au tableau I le détail des solutions minérales les plus usitées.

De composition simple, ces milieux ne sont en somme que des modifications, d'après les exigences des racines étudiées, des milieux de Knop et de Pfeffer.

On remarquera que si la plupart des racines se développent bien dans des solutions différentes, il a fallu établir des formules spécialement adaptées aux racines de *Lycopersicum* et de *Pisum* pour en obtenir la croissance illimitée.

Des recherches comparatives ont été faites pour connaître l'efficacité relative de diverses solutions vis-à-vis des racines isolées d'une seule espèce. White P. R. (1937) cultiva des racines de *Lycopersicum esculentum* dans 17 substrats minéraux différents utilisés couramment en physiologie végétale et même pour la culture des tissus animaux. Il fit en sorte que la concentration molaire totale de tous les milieux fut égale à celle de la solution témoin (celle de White [1934]), les proportions relatives des sels de chacun des milieux étant maintenues. Voici, dans l'ordre d'efficacité, le classement des solutions expérimentales : solution témoin White (1934), solutions de Shive, de Tottingham, de Knop, de Schimper, de Pfeffer, de Hartwell, de Wheeler et Pember, de Schreiner et Skinner, de Trelease et Trelease; suivent les solutions de Crone, de Maze, de Ringer, de Beyerinck, de Mc Collum, Rask et Becker, de Marchal et Marchal, de Tyrode et de Sachs, dont le rendement est inférieur.

Pour les racines de *Zea Mays*, Robbins W. J. et White V. B. (1936) observent que la solution qu'ils utilisent est plus favorable que celles de White P. R. (1934), d'Upenski et de Trelease et Trelease.

Robbins W. J. et Bartley Schmidt (1938) déclarent que lorsque l'extrait de levure est remplacé par de la vitamine B_1, la solution modifiée de Pfeffer (où l'on remplace 0,0025 °/₀₀ de $Fe_2(SO_4)_3$ par 0,0008 °/₀₀ de $FeCl_3$) donne plus de satisfaction que celle de

White P. R. (1934) pour la culture des racines de *Lycopersicum*.

Un fait à noter est le caractère acide des solutions qui donnent les meilleurs résultats; elles ont pH inférieur à 6,0 (White P. R. [1936]). Ce fait avait déjà été constaté dès les premiers travaux sur la culture des racines. Pour les tissus animaux, au contraire, on sait que la réaction du substrat doit être neutre ou alcaline.

Concernant l'influence que les anions et cations peuvent exercer sur la croissance, nous ne possédons que les renseignements obtenus par White P. R. en cultivant les racines de *Triticum*. Ca^+ et K^+ sont des éléments indispensables; la suppression de Mg^+ et de CO_3 améliore le rendement; celle de NO_3 ou de SO_4 n'a pas d'effet bien déterminé, non plus que l'addition de Na^+ ou de Cl^- en grandes proportions.

Il semble que les racines isolées de *Lycopersicon* ne requièrent pas d'autre source d'azote que les nitrates, pour leur croissance illimitée (Robbins et Bartley Schmidt, 1938).

Les concentrations salines totales des solutions ne paraissent guère affecter la croissance. Ainsi Robbins W. J. et Maneval, travaillant sur les racines de *Zea Mays*, font varier, sans préjudice, la concentration des sels, du simple au sextuple.

Les auteurs ont bientôt constaté que le milieu minéral de base (genre Knop ou Pfeffer), quoique satisfaisant, ne donne pas encore un rendement parfait. Robbins W. J., White V. B., Mc Clary et Bartley (1936), de même que Robbins W. J. et White V. B. (1936), ayant observé que l'addition de divers extraits (extrait de papier filtre qualitatif, extrait d'agar, empois d'amidon, etc.) exerce un heureux effet sur le comportement des racines de

Les solutions minérales employées par les auteurs pour la cul

Milieu de Knop.

$Ca(NO_3)_2$	1,00 gr.
KNO_3	0,25 gr.
KH_2PO_4	0,25 gr.
$MgSO_4$	0,25 gr.
Fe_2Cl_6	trace.
Eau	1000

Employé par KOTTE W. (1922) pour les racines de *Pisum* et de *Zea Mays*; par MALYSCHEV (1932) pour celles de *Vicia faba*, *Phaseolus vulgaris* et *Zea Mays*; pour celles de *Lupinus albus* par GAUTHERET (1935).

Milieu de

$Ca(NO_3)_2$	
KNO_3	
KH_2PO_4	
$MgSO_4$	
KCl	
$FeCl_3$	
Eau	

Employé par ROBBINS W *Zea Mays*, *Gossypium* et *P* ROBBINS et WHITE V. B. (19 pour celles de *Zea Mays*; *Zea*, *Pisum*, *Soya*, *Helian*

KNO_3	1 gr.
NaH_2PO_4	0,25 gr.
$MgSO_4 7H_2O$	0,25 gr.
$CaCl_2$	0,125 gr.
$FeCl_3$	1 goutte solution N
Eau	1000

Employé par TSUNG-LE-LOO et SHIH-WEI-LOO pour les racines de *Zea Mays*.

$Ca(NO_3)_2$	
$MgSO_4$	
KH_2PO_4	
$FeCl_3$	
$MnCl_2$	
$ZnCl_2$	
Borate de Na ...	
Eau	

Employé par ROBBINS W racines de *Zea Mays*.

N. B. — Les flèches indiquent que de deux milieux qu'elles relient, le second milieu est une modification du premier.

nes isolées et les rapports qu'elles présentent entre elles.

é.

	0,33 gr.
	0,083 gr.
	0,083 gr.
	0,083 gr.
	0,046 gr.
	0,0008 gr.

ur les racines de
NS W. J. et MANEVAL,
. GEIGER et BURLET
our les racines de
n et *Ricinus*.

Milieu d'Uspenki et Uspenskaia.

$Ca(NO_3)_2$	0,144 gr.
KNO_3	0,025 gr.
KH_2PO_4	0,025 gr.
$MgSO_4 7H_2O$	0,050 gr.
K_2CO_3	0,0348 gr.
$Fe_2(SO_4)_3$	0,00125 gr.
Eau 1000	

Employé par WHITE P. R (1932) pour les racines isolées du *Triticum vulgare*.

	0,05 gr.
	0,01 gr.
	0,01 gr.
	0,001 gr.
	0,0001 gr.
	0,0001 gr.
	0,0001 gr.

B. (1936) pour les

$Ca(NO_3)_2$	0,142 gr.
KNO_3	0,081 gr.
KH_2PO_4	0,012 gr.
$MgSO_4$	0,073 gr.
KCl	0,065 gr.
$Fe_2(SO_4)_3$	0,0024 gr.
Eau 1000	

Spécialement adapté aux racines de *Lycopersicon esculentum* (White P. R. 1934 et suivantes) et utilisé en 1938 par ROBBINS et BARTLEY SCHMIDT pour la culture de ces racines; employé par FIEDLER (1936) et SEGELITZ pour les racines de Maïs.

Employé en 1938 par WHITE P. R. pour les racines de nombreuses Dicotylées.

$Ca(NO_3)_2 4H_2O$	0,236 gr.
KNO_3	0,081 gr.
KH_2PO_4	0,012 gr.
$MgSO_4 7H_2O$	0,036 gr.
KCl	0,065 gr.
$Fe_2(SO_4)_3$	0,002 gr.
ou tartrate ferrique	0,001 gr.
Eau 1000	

Spécialement adapté pour la croissance illimitée des racines de *Pisum* (Bonner et Addicott 1937).

Maïs *in vitro*, purent bientôt montrer que cet effet est dû à la présence, dans ces extraits, de sels minéraux en quantités infimes. Ces auteurs, ainsi que White P. R. (1937), prouvèrent que des sels accessoires améliorent le rendement des cultures de racines de *Zea Mays* et de *Lycopersicum* (cendres d'extraits de levure, cendres d'agar et de papier filtre; addition de $Zn\ Cl_2$, $Mn\ Cl_2$, borate de Na, etc). Semblablement, Fiedler trouve que si l'on ajoute un peu de solution A-Z [1] de Hoagland au substrat, les racines paraissent être en meilleures conditions.

Pour Bonner J. et Addicott, cependant, il n'y a aucun avantage à ajouter des cendres de levure ou de papier filtre qualitatif pour la culture des racines de *Pisum*.

Enfin, il semble qu'en ce qui concerne les racines de *Lycopersicum*, quatre composants accessoires seulement sont importants (White P. R. [1938] : ce sont KI (0,75 mgr. $^0/_{00}$), $Mn\ SO_4$ (4,40 mgr. $^0/_{00}$), $Zn\ SO_4$ (1,5 mgr. $^0/_{00}$) et $H_3\ BO_3$ (1,6 mgr. $^0/_{00}$).

b) Aliment sucré. — Les sucres qui ont été le plus couramment employés sont le glucose et le saccharose, mais les auteurs ont également expérimenté divers autres glucides.

Le glucose fut utilisé pour la culture des racines de *Raphanus* (Molliard [1921]; Gautheret [1935]); — de *Zea Mays* (Kotte W., Robbins W. J. [1922]; Tsung-Le-Loo et Shih-Wei-Loo [1935]; Gautheret [1935]; Geiger Huber et Burlet [1936]; Fiedler [1936]; Galligar G. [1938]; Segelitz G. [1938]); — de *Gossypium* (Robbins [1922] et Galligar [1938]); — de *Pisum* (Kotte, Robbins W. J. [1922]); — de *Lupinus*

---

[1] Solution minérale contenant des traces de nombreux sels.

(Dauphine [1929]; Gautheret [1935]); — de *Triticum* (White P. R. [1932]; Robbins et Maneval [1923]); — de *Lycopersicon* (Robbins et Bartley Schmidt [1938]), etc.

Le saccharose, pour celles de *Vicia faba, Phaseolus vulgaris, Zea Mays* (Malyschev [1932]); *Pisum sativum* (Bonner et Addicot [1937]); *Lycopersicon* (White P. R.) et de nombreuses Dicotylées que White P. R. étudie en 1938.

Le sucre (glucose ou saccharose) a été presque toujours employé à la concentration de 2 %. Cependant, la concentration optimale serait de 4 % pour les racines de *Zea Mays* (Robbins et Maneval [1923]) et de *Pisum*(Bonner J. et Addicot [1937]).

L'efficacité des divers sucres a été recherchée. Selon White P. R. (1934), le glucose n'est pas satisfaisant pour les racines de *Lycopersicum*, alors que Robbins W. J. et Bartley (1937) parviennent à y cultiver celles qui proviennent des cultures cloniques de White lui-même. Un peu plus tard Robbins W. J. et Bartley Schmidt (1938) trouvent que le glucose, le maltose et le lévulose peuvent remplacer le saccharose pour la culture des racines de Tomate; le cellobiose donne de moins bons résultats.

Pour les racines de *Zea Mays*, de *Gossypium* et de *Pisum* le glucose doit être préféré au lévulose (Robbins W. J. [1922]; Robbins W. J. et White V. B. [1936]), au saccharose et au xylose; le maltose est à rejeter. Selon Fiedler, cependant, le glucose et le saccharose se valent, dans la culture des racines de *Zea Mays*.

Pour celles de *Lupinus albus*, Gautheret observe que le glucose donne de meilleurs rendements que le saccharose et le fructose; quant aux lactose, galactose et glycérol, ils sont tout à fait inefficaces.

Enfin le saccharose convient mieux que le fructose aux racines de *Pisum* (Bonner et Addicot).

Robbins et Bartley Schmidt (1938) attirent l'attention sur l'importance qu'il faut attribuer aux impuretés présentes dans les sucres « purissimes ».

c) Substances additionnelles. — La peptone et surtout l'extrait de levure se sont révélés des éléments importants dans la croissance des racines isolées. De nombreuses recherches ont été entreprises pour connaître les constituants de l'extrait de levure ou les substances qui pourraient éventuellement le remplacer.

Nous avons dit précédemment que ce fut Robbins W. J. (1922) qui eut l'heureuse idée d'utiliser l'extrait de levure. White P. R. (1932 et suivantes), Fiedler (1936), Robbins et Maneval (1923), Robbins W. J. et collaborateurs, Bonner et Addicot (1935) suivent son exemple.

Il est établi actuellement — nous l'avons vu plus haut — qu'à l'extrait de levure on peut substituer des sels minéraux en quantités infimes, des amino-acides et de la vitamine B_1 (ou le radical thiazol de cette dernière). Néanmoins, le rendement des cultures faites en présence d'extrait de levure reste supérieur. (Robbins W. J. et Bartley [1937]; Bonner J. et Addicot F. [1937]; Robbins W. J. et Bartley Schmidt [1938]; White P. R. [1937, 1938]).

La vitamine B_1 synthétique produit le même effet que la vitamine B_1 d'origine naturelle (Bonner et Addicot, sur les racines de *Pisum*).

White P. R. (1937) et Robbins et Bartley (1937) ont montré que la vitamine B_1 est inefficace en l'absence de sels accessoires en traces qui jouent ici le rôle de facteurs limitants.

La peptone est favorable à la croissance des racines de *Zea Mays* (Kotte W., Robbins W. J. [1922], Gautheret [1935], Tsung-Le-Loo et Shih-Wei-Loo [1935], Galligar [1938]); de *Pisum* (Kotte W., Bonner et Addicot, Galligar); de *Lycopersicon* (Robbins et Bartley Schmidt [1938]), etc. Elle inhibe la croissance et la production de radicelles chez le Maïs, si elle est employée à raison de 0,2 % ou plus (Galligar [1936]).

L'asparagine, qui, selon Bonner et Addicot, a peu d'effet sur les racines de Pisum, améliore, selon Kotte, le rendement de celles de *Zea Mays* et de *Pisum*. Malyschev la trouve favorable pour les racines de *Maïs*, mais pas pour celles de *Pisum*, *Phaseolus* et *Faba*. Pour Robbins (1922), elle est inefficace sur les racines de *Maïs*.

Aux fortes concentrations (10 mgr. $^0/_{00}$) la cystéine inhibe la croissance des racines de *Pisum*, mais l'accélère aux fortes dilutions (Bonner et Addicot [1935]). Fiedler H., et Geiger Huber et Burlet obtiennent semblable résultat, pour les racines de *Zea Mays*, avec l'hétéroauxine (accélération de la croissance à 0,005 γ $^0/_{00}$) ou le glutathion (Fiedler, sur les racines de Maïs). Cependant, selon Robbins et White V. B. (1936), le glutathion n'influence aucunement la croissance des racines de *Zea Mays*.

Gautheret R. trouve que le chlorhydrate de cystéine et le nucléinate de Na sont favorables, de même que des mélanges d'amino-acides (Bonner et Addicot et White P. R. [1937] pour les racines de *Pisum* et *Lycopersicum*, mais en faibles concentrations totales (10 à 15 mg. $^0/_{00}$).

Le légumine-trypagar favorise la croissance des racines de Maïs et de Pois et leur ramification; il est sans effet sur les racines de Coton (Galligar [1936]).

Les acides pimélique et nucléique ne donnent pas de bons résultats pour la Tomate (Robbins W. J. et Bartley Schmidt [1938]).

La lactoflavine (vitamine B_2) ne produit aucun effet (Bonner et Addicot, Robbins et Bartley Schmidt [1938]), non plus que la vitamine C ou acide ascorbique (Robbins et Bartley Schmidt [1938]).

Quant à l'inositol (Bios I), Robbins et Bartley Schmidt constatent qu'il peut remplacer, sans l'égaler cependant, la vitamine B_1 pour les racines de *Zea Mays*, alors que Bonner et Addicot le tiennent pour inopérant sur celles de *Pisum*.

Le radical SH favoriserait la croissance et la ramification des racines de *Triticum* (White P. R. [1933]).

L'acide pantohénique (puissance 70) est favorable, à raison de 0,05 $^0/_{00}$, aux racines de *Zea Mays* (Robbins et White [1936]), mais n'influence guère les racines de *Lycopersicum* (Robbins et Bartley Schmidt [1938]).

On a expérimenté divers extraits : Tsung-Le-Loo et Shih-Wei-Loo (1935) amélioreraient le rendement de leurs cultures de racines de *Zea Mays* par addition au substrat minéral glucosé, d'extraits de feuilles de *Salix* à faible concentration.

La rhizopine, la rhizocaline, la blastaline, l'extrait d'embryon inhibent la croissance des racines de *Zea Mays* ou la favorisent suivant la dilution (Fiedler H.).

Pour le *Maïs* encore, Robbins et Maneval (1923) observent que les extraits de graines, de plantules et d'endosperme de la même plante sont toxiques ou inefficaces. Robbins et White V. B. (1938) provoquent une amélioration du rendement par addition, aux milieux, de diffusat de graines germées ou de pointes radiculaires, ou par addition d'extrait de

graines germées. Par contre, le diffusat des sommets de coléoptile inhibe la croissance.

Avec Robbins et Bartley nous insisterons sur la prudence avec laquelle on doit accueillir les résultats faisant intervenir des extraits complexes; nous nous garderons bien de les interpréter.

Aucun facteur spécifique ou produit naturel autre que la vitamine B_1 ou son radical thiazol n'a été trouvé capable de remplacer l'extrait de levure autolysée (1). Cependant, la peptone, la néopeptone, le maltose Merck n° 22068 (mais pas d'autres échantillons de maltose!) et l'inositol paraissent pouvoir partiellement s'y substituer (Robbins W. J. et Bartley Schmidt [1938]). L'effet de ces substances serait dû peut-être à leur contenu en vitamine B_1?

Nous terminerons cette étude des constituants des milieux de culture en donnant, à titre documentaire, la composition d'un substrat complètement synthétique réalisé par White P. R. pour la croissance illimitée des racines isolées de *Lycopersicum esculentum*.

	Mgr.		Mgr.
$Ca(NO_3)_2$	70,00	d_1 — phénylalanine ...	1,50
KNO_3	80,00	d_1 — lysine...	1,50
KCl...	65,00	d_1 — valine...	0,15
KH_2PO_4	12,55	d_1 — serine...	0,05
KI	0,75	d_1 — isoleucine..	0,0015
$MnSO_4$...	4,40	acide d — glutamique ...	5,00
$Fe_2(SO_4)_3$	2,50	l — histidine	1,50
$ZnSO_4$...	1,50	l — proline...	0,50
H_3BO_3...	1,50	l — leucine...	0,015

Vitamines B_1 : 1 mgr. Saccharose : 20 gr.

Eau : 1000

(1) Des travaux, publiés après la rédaction de ce travail, ont indiqué d'autres substances (*note du correcteur*).

2. Nature et volume du substrat.

La plupart des auteurs ont employé le substrat liquide, au sein duquel baigne la racine isolée. Ceci introduit immédiatement un facteur nouveau à envisager : l'aération des milieux.

En règle générale les chercheurs ont cultivé leurs racines dans des flacons d'Erlenmeyer de faible capacité (125 cc.), contenant peu de solution (30 ou 50 cc.). Cependant, Bonner et Addicot se sont servis de boîtes de Pétri, d'autres (Malyschev, Fiedler, Segelitz, Gautheret) de tubes à réaction ou de tubes de culture.

C'est White P. R. qui, le premier, eut l'attention attirée par l'importance que pourrait avoir l'aération sur les racines isolées. En 1932, expérimentant les racines de *Triticum* dans des solutions de profondeurs différentes, et de surface plus ou moins grande, il conclut que les résultats ne sont guère influencés par le degré d'aération des racines; de plus, les racines qui se maintiennent à la surface ou dans la profondeur des solutions au cours de la culture semblent se comporter de la même manière. Robbins W. J. et White V. B. (1936) arrivent à la même conclusion au sujet des racines de *Zea Mays*.

Par contre, Gautheret R. (1935) observe qu'il est préférable que les racines isolées de *Lupinus albus* ne soient pas trop aérées, sous peine de nuire au développement normal.

Robbins W. J. et White V. B. (1936), amenant périodiquement en dehors des solutions les racines isolées de *Zea Mays*, en améliorent quelque peu la croissance.

Mais les expériences concluantes sont celles de Fiedler H. (1936), qui a cultivé des racines de *Maïs*

en faisant barboter continuellement de l'air stérile dans les solutions; il obtient de la sorte une très nette supériorité de rendement pour les racines aérées (en particulier forte augmentation de la production de radicelles).

Des supports solides ou colloïdaux ont également été utilisés dans la culture des racines isolées.

Molliard (1921) et Gautheret R. se servaient de coton imbibé de solution, mais ce procédé ne leur donne guère satisfaction.

Fiedler a obtenu de très bons résultats en cultivant ses racines sur sable; il les attribue à des conditions de meilleure aération.

Les milieux agarisés ont été utilisés par Kotte, Malyschev, Fiedler, Gautheret, Robbins W. J. et White V. B. (1936), Bonner et Addicot, Segelitz. Le comportement des racines isolées y est beaucoup meilleur qu'en milieu liquide. Il ne faut pas oublier, comme le firent remarquer White P. R., et Robbins, White V. B., Mc Clary et Bartley M. (1936), que la présence d'agar constitue un danger pour l'interprétation des résultats. Tout d'abord l'agar contient des impuretés, des sels, etc. Par ailleurs l'excellence du rendement ne doit-elle pas être attribuée à une plus forte aération des racines? (Robbins et White V. B. [1936]). En effet, les racines croissant en surface de l'agar sont nettement plus vigoureuses, plus longues et plus ramifiées que celles qui se développent en profondeur du substrat.

3. La lumière.

Nous relevons des contradictions chez les auteurs concernant l'influence de la lumière. Signalons d'ailleurs que l'on a expérimenté tantôt à la lumière solaire, tantôt à la lumière artificielle.

Pour Robbins W. J. et Maneval (1924) la lumière du jour produit un heureux effet sur la croissance des racines isolées de *Zea Mays*, mais ce dernier ne se ferait sentir qu'au troisième repiquage seulement. Semblablement, en 1932, White P. R. observe que la lumière artificielle continue est favorable aux racines de *Triticum*. Fiedler (1935) confirme l'influence de la lumière sur les racines de *Zea Mays*, mais l'efficacité de l'éclairement varie suivant que les milieux sont aérés ou non (amélioration du rendement des racines non aérées, diminution de celui des racines aérées).

Selon Malyschev (1932), la croissance est comparable à la lumière (du jour?) et à l'obscurité (pour les racines de *Vicia*, *Phaseolus* et *Zea*), tandis que Gautheret signale qu'il vaut mieux cultiver les racines de *Lupinus albus* à l'obscurité, au lieu de les exposer à la lumière diffuse du jour.

On ne pouvait rien conclure de résultats si contradictoires, lorsque White P. R. (1937) constata que les expériences de Robbins et Maneval, de Felber-Pisck (1931) et de lui-même avaient été de trop faible durée pour acquérir une valeur définitive. C'est pourquoi il reprit l'étude de la question avec les racines de *Lycopersicum* en effectuant de très nombreux repiquages; l'expérience dura 15 semaines. Ce chercheur en conclut que la lumière du jour n'est ni essentielle, ni vraiment favorable pour la croissance des racines cultivées à l'obscurité.

Tout récemment, Robbins W. J. et Bartley-Schmidt arrivent (en 1938) aux mêmes conclusions. Par contre, Segelitz G. (1938) observe que les racines de Maïs croissent plus lentement et ont un plus fort diamètre à la lumière du jour qu'à l'obscurité, où elles sont grêles et souvent contournées.

4. La température.

Les recherches ont fréquemment été effectuées sans contrôle de la température.

White P. R. étudia systématiquement l'influence de la température sur les racines isolées. En 1932, il observe que le meilleur rendement, pour les racines de *Triticum*, se réalise entre 20° et 30° C., plus précisément entre 26° et 28° C. Contrairement aux variations de l'éclairement des cultures, les variations de température ont une répercussion importante et fort nette sur les vitesses de croissance des racines. (White P. R. [1937].) C'est dans les écarts de température qu'il faut rechercher la cause des fluctuations cycliques que l'on observe, d'une année à l'autre, dans la croissance des racines de *Lycopersicum* cultivées à la température ambiante. Pour les racines de Tomate l'optimum de température est de 30° C.

Tsung-Le-Loo et Shih-Wei-Loo (1935) et Fiedler (1935) sont, à notre connaissance, les seuls qui aient contrôlé ce facteur important au cours des expériences.

En 1937, White P. R. montre encore que l'on peut conserver les racines isolées pendant 2 mois à 15° C. et les cultiver ensuite sans aucune altération de la croissance. Un séjour plus prolongé à 15° C. est préjudiciable. Ces constatations sont importantes pour le stockage des cultures.

Selon M^me^ Galligar, la température optimale pour les racines isolées de *Pisum* est de 10° C., pour les racines d'*Helianthus* et de *Zea Mays*, de 20° C.; elle est de 25° C. pour *Gossypium*. A 10° C. et à 35° C., il ne se forme pas de radicelles sur toutes ces racines.

*
* *

5. Résumé.

Que conclure de cet examen des conditions de culture des racines isolées, que nous avons intentionnellement approfondi?

L'un des faits les plus frappants est le nombre de contradictions que nous avons relevées. Nous ne nous en étonnerons pas, parce que les auteurs ne travaillent pas dans des conditions standardisées.

Néanmoins, nous pouvons résumer en quelques points les principaux résultats définitivement acquis :

1° Il faut, pour la croissance des racines isolées, un substrat constitué d'une solution minérale à caractère acide ($pH^+ < 6,0$), un glucide (glucose ou saccharose) et de l'extrait de levure autolysée (20 cc. par litre).

2° L'extrait de levure peut être remplacé par un complexe constitué : de sels minéraux accessoires, d'un mélange d'amino-acides et de vitamine B_1 (ou de 4-méthyl-5-hydroxy-éthylthiazol).

3° Actuellement, à part la vitamine B_1 ou son thiazol, il n'a pas encore été possible de trouver un élément synthétique ou un extrait naturel pouvant remplacer complètement l'extrait de levure. La vitamine B_1 paraît être dès lors le facteur actif de l'extrait de levure.

4° Pour la constitution des solutions, il faut employer des produits purissimes. Les traces d'impuretés contenues dans les produits chimiquement purs influencent fortement le comportement des racines isolées. Que penser alors des extraits naturels, de l'agar-agar, etc.?

5° Il est impossible de donner une formule universelle de substrat de culture dans lequel les racines de toutes les espèces pourraient se développer. Les racines des différentes espèces manifestent des exigences diverses.

6° Les conditions d'aération et l'illumination des cultures, ainsi que les conditions de température exercent une fort grande influence sur le comportement des racines cultivées *in vitro*.

III. — LA VARIABILITE DE COMPORTEMENT DES RACINES ISOLEES.

Dès les tout premiers travaux sur la culture des racines isolées, nous trouvons dans les textes l'une ou l'autre allusion à un comportement irrégulier des racines cultivées dans des conditions identiques.

C'est Robbins W. J. qui en parle le premier (1922 *a*, p. 379) : « Considerable variation in growth was evident. Some of the roots in the sugar solution made little or no growth, others grew well... ».

Malyschev (1932, p. 262) constate à son tour que : pour les racines de *Pisum*, *Zea* et *Vicia* « Das Wachstum der Wurzeln vollzog sich bei meinen Versuchen stets ingleichmässig, periodisch, bald verstärkste es sich, zeitweise hörte es aber ganz auf... ».

White P. R. (1934) signale, sans s'y arrêter, de grandes différences de comportement apparaissant dans ses essais de cultures cloniques de racines (*Lycopersicum esculentum*).

Gautheret R. (1935) conclut comme suit, au terme de ses recherches sur les racines isolées de *Zea*, *Lupinus*, *Triticum* etc. (p. 118) : « L'étude cinématique du développement des racines isolées conduit à des résultats irréguliers; non seulement les courbes

obtenues diffèrent suivant les espèces et les milieux, mais encore la croissance de racines cultivées dans des conditions apparemment identiques présente des caractères variables. Il est, par conséquent, difficile de tirer de cette étude des conclusions relatives au mode d'utilisation des substances nutritives du milieu ou aux causes de l'arrêt du développement.

En 1936, M. Geiger-Huber et Burlet, recherchant l'influence exercée par l'hétéroauxine sur la croissance des racines et constatant le peu d'homogénéité du matériel utilisé (racines isolées de *Zea Mays*), tentèrent de sélectionner les racines à mettre en expérience. Ils laissaient croître celles-ci 4 jours en solutions minérales glucosées et ne soumettaient à l'action de l'hétéroauxine que celles qui avaient manifesté une croissance comparable.

Ce n'est qu'à un seul passage de sa publication que Fiedler H. (1936) fait mention de l'irrégularité de comportement des racines isolées de *Maïs* (p. 398) : « Obwohl ist die Agarkultur für das Wachstum isolierter Wurzelspitzen in ganzen günstiger, denn ein Teil der in Nährlösungskulturen wachsenden Wurzeln zeigt oft ein ganz anormales Aussehen... Das Wachstum solcher Wurzeln ist sehr stark gehemmt und erreich innerhalb einer Kulturperiode nur selten mehr als 30 mm. Länge ».

M^lle^ Galligar G. (1938) attribue à des causes d'ordre génétique « la variété de formes de croissance » qu'elle observe chez les racines de Maïs.

Les auteurs dont il vient d'être question ne se sont pas particulièrement attachés à l'étude de cette variabilité observée dans les cultures; la plupart même n'en font mention qu'incidemment; d'autres (Bonner et Addicot, Tsung-Le-Loo et Shih-Wei-Loo) n'en parlent pas.

Robbins W. J. et White V. B. (1936 et 1937), au contraire, ont étudié le problème plus à fond en cherchant les moyens de supprimer la limitation de la croissance que l'on observe invariablement dans la culture des racines isolées de *Zea Mays*. Ces auteurs sont frappés de l'amplitude excessive des écarts individuels (1936, p. 210) : « The average final length of 225 tips originally 1 cm. long, in sixteen experiments performed at different times, was 8,6 cm. with an average of 39 secondary roots per root. The minimum length of a single root in these experiments was 4,0 cm. with no secondary roots, and the maximum was 44,1 cm. with 191 secondary roots. The smallest average growth in a single experiment was 5,6 cm. with no average per root of 22 secondary roots and the maximum was 15,1 cm. and 75 secondary roots. » (Voir aussi Robbins W. J., White V. B., Mc Clary et Bartley M., 1936, p. 636.)

En même temps que la croissance distinctement limitée et irrégulière, on observe des cas de développement anormal. Beaucoup de racines sont hypertrophiées dans toute leur longueur, d'autres manifestent une hypertrophie de la région d'élongation seulement, d'autres enfin se colorent en brun, etc. Détail curieux : « The proportion of roots developing such abnormalities varied from experiment to experiment. At the end of ten days or two weeks abnormal roots made up from 10 of 100 per cent of those cultured in solution C., the modified Pfeffer's solution and similar solutions. » (Id., p. 212.)

Selon Robbins W. J. et White V. B., quatre hypothèses peuvent être invoquées pour expliquer de pareils faits. Ce sont : des conditions défavorables du milieu (toxicité, solution non balancée, etc.) ; ou une

insuffisance du milieu soit en oxygène, soit en sels minéraux ou en corps organiques ou inorganiques que la racine isolée ne pourrait synthétiser; ou bien encore des conditions d'ordre génétique ou de technique au cours des manipulations précédant la mise en culture; ou enfin l'action d'un facteur externe indépendant du milieu, comme, par exemple, la température d'incubation. **Les deux chercheurs américains pensent que c'est à une insuffisance du substrat qu'il faut attribuer la limitation de la croissance des racines étudiées.**

Plus récemment, cependant, dans une publication de juin 1938, Robbins W. J. et Bartley Schmidt s'attachent cette fois à l'hétérogénéité de comportement des racines de *Lycopersicum esculentum* en cultures cloniques, associent ce phénomène à des différences d'ordre interne entre les fragments radiculaires cultivés. « Throughout these experiments considerable variability was noted in the growth of excised tomato roots under similar conditions. One root might develop several times as much as another, even though both were grown in aliquots of the same solution for the same period of time and under the same conditions of light and temperature. The variability to which we refer is not that resulting from complete failure of a particular root fragment to grow... Even when both roots under consideration grew, one might develop much better than the other... » (p. 719). « The character of the root used as inoculum may be responsible, although this has not been demonstrated.... » (p. 720).

Ces constatations nous mettent en présence d'un problème que nous considérons comme capital et qui n'est pas encore résolu : quelles sont les causes de la

variabilité dans le comportement des racines cultivées *in vitro*?

CONCLUSION.

La culture des racines isolées a donné des résultats remarquables, notamment en ce qui concerne les constituants indispensables des milieux de culture. Grâce à elle, des précisions très importantes et que l'on attendait ont été mises à jour.

Dès à présent on peut certifier que la culture des racines constitue une technique nouvelle du plus haut intérêt; une racine qui se développe indépendamment de la plante mère ne constitue-t-elle pas un matériel de choix qui serait employé avec succès pour les études de croissance, d'absorption, de nutrition, de métabolisme, etc.?

Il est donc tout indiqué d'adopter cette technique récente pour notre étude de la croissance et de la ramification des racines.

Jusqu'à présent, malheureusement, presque tous les travaux ont eu pour but principal la recherche des conditions optimales de développement des racines isolées (établissement de formules de milieux de culture; effet de substances diverses, mise au point des conditions favorables à la croissance illimitée, etc.). Il s'ensuit que les auteurs ne nous donnent que fort peu de renseignements précis en ce qui concerne le problème de la rhizogenèse.

De plus, nous avons relevé, dans l'exposé qui précède, de très nombreuses contradictions d'un auteur à l'autre; il arrive même d'en découvrir chez le même auteur, d'une publication à l'autre!

Enfin, nous nous butons à un grave inconvénient; nous avons vu que le développement des racines iso-

lées ne laisse pas d'être capricieux et extrêmement irrégulier. *Cette hétérogénéité des résultats se retrouve dans toutes les expériences et quelles que soient les racines cultivées.* Elle se manifeste en ordre principal sur l'aspect extérieur des racines (racines d'aspect normal ou d'aspect maladif), sur leur longueur et l'abondance de leur ramification, enfin sur la longueur et la ramification des radicelles.

De ces constatations, il résulte que nous ne pouvons pas entreprendre d'emblée, sur les racines cultivées, notre étude de la rhizogenèse.

Préalablement, il va falloir observer, dans le même détail et au point de vue de leur croissance et de leur ramification, le développement des racines *in vitro*. Et tout d'abord, afin d'éliminer les causes d'erreurs banales, nous mettrons un soin scrupuleux à suivre une technique minutieuse et à travailler dans des conditions rigoureusement standardisées. Cette précaution est indispensable à l'endroit d'un matériel extrêmement sensible aux moindres variations des facteurs du milieu. De la sorte toutes nos expériences pourront être comparatives.

Enfin, nous attacherons la plus grande importance à l'étude de l'hétérogénéité des résultats. En rechercher la cause n'est-ce pas déjà entrer au cœur de notre sujet? N'est-ce pas envisager sous un angle nouveau le problème de la rhizogenèse?

MATERIEL ET TECHNIQUE.

Le rapide historique que nous venons d'esquisser montre à suffisance la nécessité d'une technique extrêmement précise si l'on veut confronter, avec quelque chance de succès, les résultats obtenus dans la culture *in vitro* de racines isolées du corps de la plante.

Nous avons mis le plus grand soin à réaliser ces conditions que nous allons maintenant examiner l'une après l'autre.

1. MATERIEL D'ETUDE.

Après plusieurs essais de culture de pointes radiculaires réalisées avec *Cucurbita maxima*, *Cucumis melo*, *Pisum sativum*, *Impatiens Balsamina*, *Ricinus sanguineus*, *Helianthus globulosus*, *H. fistulosus*, *Phaseolus vulgaris*, *Faba vulgaris*, *Zea Mays* et *Triticum vulgare*, nous avons adopté ces deux dernières Monocotylées.

In vitro, les racines isolées de *Zea Mays* et de *Triticum vulgare* se développent volontiers. Cependant, elles ne se comportent pas de manière uniforme; l'amplitude des écarts individuels est énorme. C'est une des raisons pour lesquelles les chercheurs ont porté leur préférence sur la culture des racines d'autres plantes, d'autant plus qu'il n'a pas été possible, jusqu'à présent, de provoquer le développement illimité des racines isolées de Maïs et de Blé.

Nous avons pourtant fixé notre choix sur ce matériel, si rebutant qu'il puisse paraître. Avec lui, en

effet, nous pourrons rechercher les conditions qui entraînent l'hétérogénéité du développement des racines *in vitro*. Il nous offre des cas de croissance considérable et de croissance médiocre, d'abondante ramification et de ramification nulle, bref toutes les possibilités imaginables de comportement.

Nos recherches ont porté sur :

1° *Zea Mays* var. *Cinquantino*, graines du commerce, provenant de la maison Belot à Liége.

2° *Zea Mays* var. *Blanc des Landes* (Indian Corn or Maïze White early Pyrenean), graines sélectionnées provenant de la Maison Vilmorin-Andrieux de Paris.

3° *Triticum vulgare* (froment de printemps), lignée P. 134.37, qui nous fut envoyée par le Prof. Lathouwers de l'Institut agronomique de l'Etat à Gembloux.

De la sorte, nos observations seront faites sur des racines d'une variété commerciale, d'une variété sélectionnée et d'une lignée pure. Cela nous permettra de tenir compte, dans nos résultats, de l'importance du caractère variétal.

Les graines ont toujours été triées une à une, afin de ne garder exclusivement que les plus comparables, tant au point de vue de la grosseur qu'à celui de l'aspect. Quant aux deux variétés de *Zea Mays*, nous n'avons jamais utilisé que les graines provenant du milieu de l'épi, afin d'en obtenir une sélection encore plus complète.

Nous n'avons jamais prélevé que des racines de plantules aux premiers stades de développement. Ces plantules étaient cultivées à 26,5° de température et **à l'obscurité.** Ce choix se justifie par le désir de partir, dès le début, d'un matériel relativement

simple (jeune plantule étiolée), caractérisé par des réserves définies que les synthèses résultant de l'exposition à la lumière ne sont pas venues enrichir ou modifier.

En boîtes de Pétri et sur papier filtre humide, à 26,5° C. et à l'obscurité, la germination des graines de Maïs et de Blé se déclanche déjà après 24 heures.

Dès ce moment, malgré la sélection, les graines et les plantules se comportent différemment (même les graines de lignée pure). Si bien qu'après 3 jours d'incubation les plantules se trouvent à des stades différents de germination; entre autres caractéristiques, la racine principale peut mesurer de quelques millimètres à 3 ou 4 cm. de longueur. Ces différences s'accentuent encore à mesure qu'augmente la durée d'incubation.

Chez *Zea Mays* ce n'est que le 5e ou le 6e jour que les radicelles apparaissent, en formation acropète, sur les racines principales; à ce moment certaines plantules portent des racines principales qui peuvent atteindre 10 cm. de longueur. Après 8 ou 9 jours, chez les plantules les plus hâtives, les racines principales et adventives sont fortement couvertes de radicelles.

Dans notre étude nous tiendrons compte non seulement de l'âge chronologique, mais encore de l'âge physiologique et de la vigueur des plantules mères.

L'**âge chronologique** se confond avec la durée d'incubation, dans les mêmes conditions, des graines mises en germination. Par exemple, nous dirons que toutes les plantules issues de graines en germination depuis 3 jours ont un âge chronologique de 3 jours; de même toutes les plantules en germination depuis 6 jours ont un âge chronologique de 6 jours.

L'**âge physiologique** fait intervenir le stade de développement des plantules. Après 3 jours de germination les plantules (d'âge chronologique de 3 jours) sont les unes peu développées, les autres plus avancées. Nous dirons que ces plantules, de même âge chronologique, ont un âge physiologique différent.

Généralement, on évalue l'âge physiologique, par exemple, par l'apparition du coléoptile, celle de la première feuille, de la deuxième feuille, du 1er entrenœud, du 2^{d} entrenœud, de l'anthèse, etc. Mais, comme nous nous occupons de plantules très jeunes et que c'est la racine de celles-ci qui nous intéresse, nous déciderons d'évaluer arbitrairement leur âge physiologique d'après la longueur de la racine dont nous cultiverons le méristème : 1, 2, 8, 10 cm., etc.

Enfin, si l'on compare entre elles des plantules de même âge physiologique, mais les unes ayant 3 jours d'âge chronologique, les autres 6 jours, il va de soi que les plantules de 3 jours ont été plus précoces, plus hâtives que celles de 6 jours. Nous dirons que les plantules de 3 jours sont plus vigoureuses. Ainsi donc, dans notre recherche nous envisagerons la **vigueur** des plantules mères.

Contrairement à certains auteurs qui ont mis en culture les extrémités radiculaires des racines latérales ramifiant les racines principales, nous nous sommes astreint à ne cultiver jamais que le méristème des racines principales.

Dans aucun cas, le fragment de racine que nous avons isolé ne mesurait plus de 2 mm.; il comportait la région méristématique et la coiffe, à l'exclusion de la région d'allongement. Les auteurs ont souvent

mis en culture des racines de plusieurs cm. de longueur, au départ.

2. TECHNIQUE.

a) Désinfection et germination des graines.

La première précaution à prendre est de désinfecter soigneusement les graines avant de les faire germer. En effet, il n'est pas rare de trouver, chez les Graminées, au sein même des couches périphériques de l'albumen, des germes de Mycètes divers (entre autres de *Fusarium*).

Les infections que nous avons rencontrées au cours de nos cultures de méristèmes (3 à 4 % seulement) ont toujours été dues, sauf accident, à une mauvaise désinfection des graines.

De nombreux auteurs (1) ont étudié de façon assez complète les divers moyens de désinfection des graines, de même que le degré d'efficacité, les doses appropriées et les durées de traitement des agents désinfectants.

Les antiseptiques utilisés jusqu'à ce jour sont nombreux et variés. On a préconisé l'emploi de sels tels que $HgCl_2$, $CuSO_4$, $AgNO_3$, etc., de substances organiques : éthanol, phénol, formol, etc. Mais ainsi que Gautheret (1935) l'a fait remarquer, ces agents présentent l'inconvénient d'être trop stables ou extrè-

(1) On consultera, pour plus ample documentation : J.-K. Wilson, *Am. Journ. Bot.*, II, 1915, p. 420; H.-C. Young, *Ann. Missouri Bot. Garden*, VI, 1919, p. 147; B.-M. Duggar et A.-W. Davis, *Ann. Missouri Bot. Garden*, VI, 1919, p. 159; E. Bobko, *Zeitschr. Pflanzenernähr. u. Düng. A. Wiss.*, Teil III, 1924, p. 41; E. Essenbeck et K Suessenguth, *Arch. Exp. Zellf.*, I, 1925, p. 547; R. Gautheret, *Culture des Tissus végétaux. Essais de culture...*, 1935; R. Gautheret, *C. R. Soc. Biol.*, CXXVI, 1937, p. 408; R.-E. Girton, *Plant Phys.*, XI, 1936), p. 635.

mement toxiques; la germination des graines peut en être fort affectée. Il faut préférer l'emploi de substances qui ne sont actives que grâce à leur pouvoir oxydant : eau de brome, H_2O_2, hypochlorites, etc.

On sait que les différents désinfectants n'agissent pas aux mêmes concentrations et nécessitent des durées d'action plus ou moins prolongées. De plus la désinfection de graines de diverses espèces par un même antiseptique n'est pas terminée dans le même temps.

Actuellement c'est la méthode aux hypochlorites, préconisée par Wilson, Young et Duggar et Davis, qui tend à être la plus utilisée. La raison de ce choix réside dans le fait que le chlore des hypochlorites se

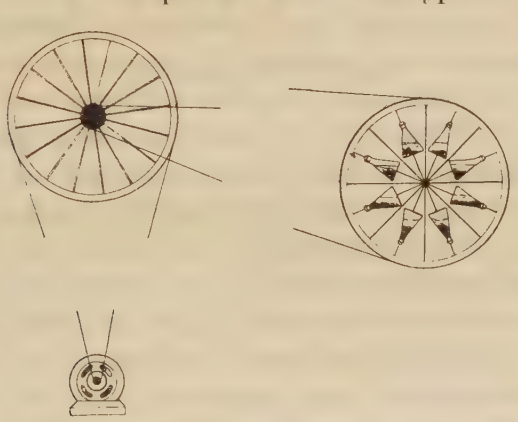


Fig. 1. — Appareil mélangeur, utilisé pour la désinfection des graines.

disperse rapidement dans l'air ambiant; de la sorte il ne se produit, sur les graines, aucun effet toxique.

C'est cette méthode que nous avons adoptée. Contrairement à Young, Wilson, Gautheret, etc., nous n'avons pas utilisé l'hypochlorite calcique. Nous nous sommes basé sur les observations de Girton (1936), qui a trouvé que l'hypochlorite sodique est d'un meil-

leur rendement. Comme liquide antiseptique nous avons donc fait usage de l'extrait de javel Lacroix (établissement Cotelle et Foucher, Belgique). Chacun sait que l'eau de javel est un mélange de chlorure et d'hypochlorite sodiques. D'après nos dosages, cet extrait commercial contient environ 3,4 % de Cl actif. Suivant les données de Girton, nous nous sommes servi d'une solution étendue au moyen d'eau distillée et titrant 1 % de Cl actif.

Girton a expérimenté avec succès en 1936 l'action du vide sur les graines pendant une minute, afin d'obtenir une meilleure pénétration de l'agent désinfectant; Gautheret (1937) confirma l'efficacité de ce procédé pour les graines à téguments ridés.

Nous n'avons pas jugé nécessaire d'employer le vide. Une agitation continue des graines pendant l'action de l'antiseptique y supplée suffisamment. L'agitation est réalisée par une roue tournant autour d'un axe horizontal et actionnée par un moteur; sur celle-ci sont fixés des flacons contenant les graines et le mélange désinfectant (fig. 1). La vitesse de rotation est de 30 tours à la minute.

Les auteurs qui ont suivi la méthode à l'hypochlorite ne jugent pas nécessaire de rincer les graines après désinfection. Nous préférons au contraire opérer deux rinçages successifs (à l'eau distillée stérile) pour éliminer autant que possible les traces de sels et d'impuretés qu'apporte nécessairement la liqueur antiseptique, et qui pourraient éventuellement exercer une action sur la germination. Le dernier lavage dure 24 heures, ce qui permet en même temps une parfaite hydratation des réserves. La germination des plantules en est activée.

Lorsqu'elles ont été désinfectées et rincées, les

graines sont introduites aseptiquement dans des boîtes de Pétri (Boromica) de 11 à 13 cm. de diamètre. Celles-ci, contenant chacune 3 épaisseurs de papier Joseph (n° 120 de Durieux), ont été préalablement stérilisées à l'autoclave, à 1,25 atmosphère, pendant 20 minutes. Après quoi elles ont reçu chacune environ 5 cc. d'eau distillée stérile. Au moyen d'une spatule passée à l'alcool et flambée on dépose 10 graines dans chaque boîte de Pétri.

La méthode à l'hypochlorite donne de bons résultats, mais n'élimine pas toute infection. Les boîtes de Pétri contenant des graines infectées ont toujours été écartées. En général nous n'avons pas eu plus de 4 % d'infections.

b) Milieu de culture.

Notre choix a porté sur la solution minérale que White P. R. (1934) a établie pour obtenir la croissance illimitée des racines isolées de *Lycopersicum esculentum*. Fiedler (1935) et Segelitz G. (1938) l'ont utilisée avec succès pour la culture des racines de *Zea Mays*.

Voici la composition de notre substrat minéral :

	Gr.
$Ca(NO_3)_2$	0,141
$MgSO_4, 7H_2O$	0,073
KNO_3	0,080
KCl	0,064
KH_2PO_4	0,012
$FeSO_4, 7H_2O$	0.002

Eau : 1000 cc.

C'est la formule de White, où le $Fe_2(SO_4)_3$ a été remplacé par du $FeSO_4, 7H_2O$.

L'eau est distillée sur verre, en présence de $KMnO_4$ alcalin et redistillée en présence de H_2SO_4. Cette eau

bidistillée a un pH^+ de 5,3 à 5,6, dû uniquement à la présence de CO_2.

Les corps chimiques sont tous des produits Merck purissimes *pro analysi*, sauf le $Ca(NO_3)_2$: calcium nitricum purum.

A la solution minérale, il est toujours ajouté du glucose purissime anhydre *pro analysi* (*pro infusione*) Merck, à raison de 20 gr. par litre de solution.

Nous cultiverons tout d'abord les racines en solutions minérales glucosées, c'est-à-dire en milieux déficients.

Ensuite, nous les cultiverons en milieux réputés complets, c.-à-d. en solutions minérales glucosées additionnées d'extrait de levure autolysée.

La préparation de l'extrait se fait suivant les indications de Robbins W. J. (1922) et de White P. R. (1932). On prend 0,5 gr. de levure séchée et conservée en exsiccateur; on la chauffe à ébullition dans 100 cc. d'eau bidistillée pendant 1/2 heure. On filtre. Après refroidissement le filtrat est ramené au volume original. On emploie 20 cc. de cet extrait par litre de solution. Contrairement aux auteurs, nous avons employé de la levure de boulangerie (levure royale, Bruges) et non pas de la levure de brasserie (1).

Dans la deuxième Partie de notre travail, nous avons introduit dans la solution minérale glucosée, de l'hétéroauxine (acide β-indolacétique). Ce produit provient de la maison F. Hoffmann-La Roche et C° (Bâle). L'hétéroauxine a été utilisée aux concentrations finales de 1,5 mgr. et 1,7 mgr. par litre de solution.

(1) Parce que nous n'avons pu disposer de levure de brasserie suffisamment pure.

Le pH des solutions est, après stérilisation :

— pour le milieu minéral glucosé, pH 4,5;

— pour le milieu minéral glucosé avec extrait de levure, pH 4,9 (avant stérilisation le pH est 5,3); Fiedler trouvait un pH de 5,2, mais se servait d'extrait de levure de bière;

— pour le milieu minéral glucosé avec hétéroauxine, pH 4,3.

La réalisation des solutions nécessite une grande attention sous peine d'échec dans la culture, étant donnée l'extrême sensibilité des méristèmes radiculaires vis-à-vis de la nature du substrat.

Toute notre verrerie est en verre Boromica (Val-Saint-Lambert, Belgique). Ce dernier est très peu soluble et nous avons constaté dans des essais précédents concernant la culture des Algues (Delarge [1937]) qu'il ne modifie presque pas le pH des solutions : après un mois, le pH d'un milieu de culture contenu en récipients Boromica n'a varié que de 0,1 unité, 0,2 au plus.

Avant emploi, la verrerie est nettoyée au mélange sulfo-chromique, rincée à l'eau de la distribution, rincée ensuite deux fois à l'eau distillée et une fois enfin à l'eau bidistillée. Elle est alors stérilisée pendant 20 minutes à 120° (air sec).

La culture des racines isolées est réalisée, selon les cas, soit en flacons d'Erlenmayer de 250 cc. de capacité, soit en tubes de 20 cm. de long sur 3 cm. de diamètre. Les flacons d'Erlenmeyer reçoivent 100 cc. de solution; les tubes, 30 cc.

Dès que les flacons de culture ont reçu les solutions, ils sont exposés pendant 1/2 heure à un courant de vapeur d'eau portée à ébullition. Cette opération est

répétée 3 fois à 24 heures d'intervalle (Tyndallisation).

L'hétéroauxine est ajoutée, ou bien dès l'introduction des méristèmes dans les récipients de culture, ou bien seulement 4 ou 5 jours après.

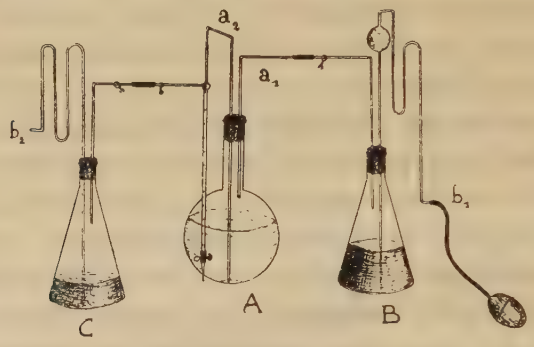


FIG. 2. — Burette destinée à l'introduction d'un liquide stérile dans les flacons de culture.

Elle est munie d'un ballon d'un litre (A), contenant le liquide stérile à distribuer. Ce ballon est fermé par un bouchon traversé par un tube (a_2) qui communique avec la burette, et par un tube (a_1) qui permet l'entrée d'air sous pression dans le ballon A.

L'air est insufflé dans l'appareil à l'aide d'une poire en caoutchouc; avant de parvenir dans le ballon A, il doit barboter dans une solution de KMn O4 contenue dans le flacon B.

Le flacon C, contenant également une solution de KMnO4, a pour but de stériliser l'air rentrant dans la burette lors de l'écoulement du liquide de la burette dans les flacons de culture.

Dans ce dernier cas, nous avons cherché à simplifier et à écourter les manipulations nécessitant l'usage d'un nombre considérable de pipettes jaugées, vu qu'il s'agissait, lors de chaque série d'expériences, de plusieurs centaines de racines. C'est pourquoi nous avons mis au point une burette qui nous permît d'introduire, au cours de la culture, les solutions en question successivement dans plusieurs centaines de milieux avec le minimum de verrerie, de manipulations et de temps; c'est-à-dire avec un minimum de risques d'infection. Nous nous en sommes également

servi pour distribuer de l'eau bidistillée stérile dans les boîtes de Pétri aseptiques, avant d'y ranger les graines à faire germer.

On trouvera la description de cet appareil à la fig. 2.

Avant usage, l'appareil entier est stérilisé à l'autoclave, à 120° C., pendant 30 minutes. Pour en rendre le transport aisé, on peut le démonter en trois parties, A, B et C, normalement reliées entre elles par des raccords en caoutchouc. Lors du transport les raccords sont obturés par des pinces de Mohr et des bouchons d'ouate stérilisés.

Les orifices d'entrée d'air (b1 et b2) des flacons B et C sont munis également de tampons d'ouate stérilisés.

c) Conditions de culture.

La mise en germination des graines, les repiquages, les cultures et les mesures des racines isolées ont été réalisés dans une cave voûtée de 4^m50 de longueur sur 2^m40 de largeur; la hauteur en est sous la voûte de 1^m50 et aux bas-côtés de 1 m. Les murs ont été cimentés et blanchis; le sol recouvert de ciment lissé. L'éclairage est assuré jour et nuit par 7 lampes Philips Arlita de 110 V-60 W.

Des trétaux recouverts de papier blanc glacé ont été disposés le long des murs à une hauteur telle que les flacons de culture soient distants de 0^m50 des lampes (fig. 3).

Une température constante de 26,5° C. a été maintenue pendant toute la durée de nos expériences, au moyen d'un thermorégulateur.

Une bouche d'air communiquant avec l'extérieur assure l'aération de la cave. Un ventilateur à tête

mobile brasse l'air continuellement, ce qui permet d'uniformiser la température dans tout le local.

Au sein même de la cave de culture est aménagée une chambre noire, destinée à recevoir les boîtes de Pétri pour la germination des graines, de même que les cultures réalisées à l'obscurité.

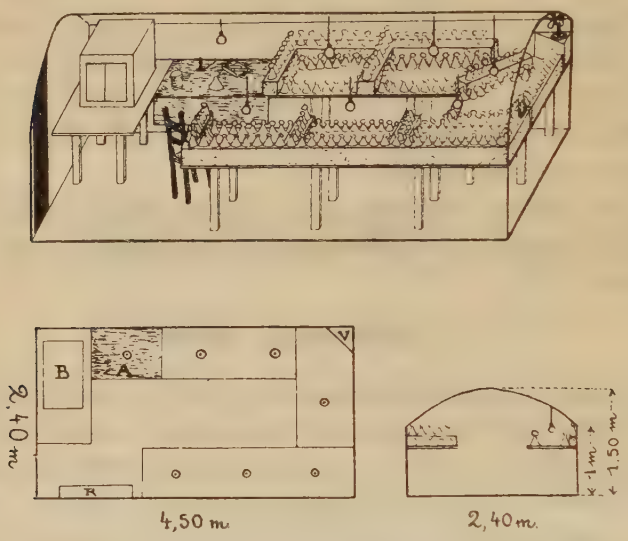


FIG. 3. — Plan de la cave de repiquage et de culture.

En A, emplacement réservé aux manipulations de repiquage, mensuration des racines, mensuration des radicelles, etc. — En B, chambre noire pour la germination des graines et pour les cultures faites à l'obscurité. — En V, ventilateur. — En R, résistance chauffante.

Notre local peut abriter simultanément 420 racines isolées.

Tous les 15 jours la cave est entièrement nettoyée. Les poussières sont enlevées à l'aspirateur et le sol de ciment lissé lavé à l'eau contenant de l'extrait de javel.

d) Technique de repiquage.

Préalablement à toute manipulation aseptique (repiquages, transplantations, additions de substances aux milieux, ensemencement des graines, etc.), la chambre de culture est soumise à une vaporisation de formol à 5 %.

Avant l'amputation des méristèmes et leur mise en culture, nous notons le développement des plantules, la longueur de leur racine principale, le nombre et la longueur des autres racines.

Les amputations de méristèmes s'effectuent au moyen de scalpels bien affilés; les mises en culture et les transplantations, à l'aide de spatules. Ces instruments sont préalablement désinfectés à l'alcool et passés à la flamme.

Rappelons ici que nous avons toujours mis en culture, et exclusivement, le méristème des racines principales. Nous ne sommes jamais parti de méristèmes de radicelles.

La longueur de la pointe radiculaire a toujours été exactement mesurée; elle ne dépassait pas 2 mm. (coiffe et bloc méristématique).

Au cours de notre recherche nous n'avons jamais effectué de repiquages successifs du méristème mis en culture; nous n'avons pas non plus fragmenté et repiqué les racines isolées, comme le font les auteurs américains (subcultures).

Dans la deuxième Partie, où nous parlerons de la culture en présence d'hétéroauxine, il nous est arrivé de transplanter des racines *entières*, mais il n'est pas question, ici non plus, de repiquages successifs.

e) Mesure des résultats.

La durée de culture est de 1 mois environ, sauf indication contraire.

Nous avons observé soigneusement, tous les deux jours, chacune des racines en les prenant une à une; leur aspect morphologique a été noté.

Nous avons mesuré la longueur des racines, établi le nombre et la longueur des radicelles de 1er ordre, des radicelles de 2^{e} ordre, de 3^{e} ordre, et ainsi de suite.

Les mesures ont été faites au millimètre près, au moyen d'une règle graduée ou au papier millimétrique. C'est la seule méthode applicable; pour un œil exercé elle devient assez précise, ainsi que nous l'ont confirmé de nombreuses contre-épreuves.

Pour abréger, nous avons convenu de représenter par r_1, r_2, r_3, etc. les radicelles de 1er, de 2^{e}, de 3^{e}... ordre. La désignation (^) signifie que la radicelle envisagée est restée à l'état d'ébauche méristématique.

Pour effectuer ces mesures et numérations délicates les racines cultivées à l'obscurité ont été exposées à la lumière électrique pendant le temps nécessaire à l'observation.

En fin de culture, nous avons mesuré les racines avec plus de précision et nous avons dessiné chacune d'elles. De plus, pour chaque racine en particulier, nous avons dressé la courbe de croissance et les courbes du nombre de radicelles de divers ordres.

Pour apprécier la valeur des résultats de culture, nous avons employé deux procédés, par suite de l'hétérogénéité considérable de ces résultats.

Tout d'abord nous envisagerons le résultat de culture dans son ensemble.

Ensuite, pour mettre un peu d'ordre dans ce désordre apparent, nous ferons l'étude analytique de ce résultat. C'est ainsi que pour chaque expérience nous grouperons les racines en plusieurs catégories, d'une part, d'après leur longueur finale, d'autre part, d'après le nombre final de radicelles de premier ordre.

Nous examinerons séparément la croissance de la racine et sa production de radicelles.

PREMIÈRE PARTIE

Étude analytique du dévelopement des racines *in vitro*.

CHAPITRE I.

ECLAIREMENT ET AERATION DES CULTURES.

(Expérience préliminaire.)

Pour nous faire une idée générale du rendement de la culture des racines isolées, nous avons voulu, dans une expérience préliminaire, nous rendre compte de l'importance qu'exercent, sur les résultats de culture, les facteurs aération et éclairement du matériel étudié. Il ne sera pas sans intérêt de signaler brièvement ici les résultats que nous avons obtenus.

Dans nos tout premiers essais de culture, nous avions constaté, contrairement aux conclusions de White P. R. (1932) et de Robbins W. J. et Schmidt (1938), que la forme du récipient dans lequel on introduit la solution influence, dans une certaine mesure, les rendements de culture.

Nous avons cultivé ici, soit en tubes, soit en flacons d'Erlenmeyer, des méristèmes de *Zea Mays Cinquantino* provenant de plantules âgées de 6 jours. Ces méristèmes ont été placés dans 30 cc. de solution

Dans les tubes, qui ont 20 cm. de hauteur et 2,5 cm. de diamètre, la solution est mise au contact de l'air ambiant par une surface d'environ 5 cm^2 pour une épaisseur de liquide de 6 cm. environ.

Dans les flacons d'Erlenmeyer de 250 cc. de capacité, la surface de liquide mise en rapport avec l'atmosphère atteint 65 cm^2 environ pour une couche liquide de 0,8 cm. environ d'épaisseur.

Pour la facilité du langage nous dirons que dans le cas des tubes, les racines sont placées en conditions de faible aération; dans le cas des flacons d'Erlenmeyer, en conditions de bonne aération. Notons que nous n'avons pas fait de barbotage d'air dans les solutions.

La durée de la culture a été d'un mois. Nous avons réalisé les séries suivantes :

1° Racines cultivées à l'obscurité en conditions de faible aération (18 racines).

2° Racines cultivées à l'obscurité en conditions de bonne aération (18 racines).

3° Racines cultivées à la lumière en conditions de faible aération (18 racines).

4° Racines cultivées à la lumière en conditions de bonne aération (20 racines).

Dès le lendemain de la mise en culture, les méristèmes entrent en activité et se développent, si bien qu'après 4 jours, la longueur des racines isolées passe de quelques millimètres à 2,6 cm.; sur quelques-unes d'entre elles on voit déjà l'ébauche de radicelles.

Il se manifeste donc, dès le début, de notables différences individuelles, d'une racine à l'autre.

Les vitesses de croissance, fortes les tout premiers

jours, diminuent, suivant les cas, aux 4e, 7e, 9e ou 13e jour, et la courbe de vitesse de la croissance tend vers un plateau.

Plus d'un tiers des racines manifestent après ce plateau une reprise de la croissance (apparaissant selon les cas le 7e, 9e, 13e, 18e jour). Cette reprise a une valeur totale de 0,5 à 2 cm.; il lui succède souvent un nouveau plateau. En général, après un mois, la croissance est bloquée ou n'a plus qu'une valeur minime.

Les radicelles apparaissent au plus tôt le 4e jour de la culture, mais souvent aussi le 7e, 10e, 18e jour.

Le nombre de radicelles atteint rapidement une certaine valeur, différente selon les cas, et qui parfois se stabilise; mais plus souvent elle est suivie de l'apparition de nouvelles radicelles. Les courbes exprimant ces nombres présentent ainsi un plateau, suivi fréquemment d'une reprise subite.

Les radicelles de 2e ordre apparaissent au plus tôt au 16e jour.

Nous ne nous attarderons pas davantage ici à l'étude du comportement, au cours de la culture, des racines isolées : un chapitre entier en fera l'objet.

Il nous suffit de savoir, pour le moment, que *ce comportement varie considérablement d'une racine à l'autre et que dans les conditions actuelles, les racines* (mais non les radicelles) *ne semblent plus capables de croître sensiblement après un mois.*

Les figures 4, 5, 6 et 7 représentent les racines cultivées dans les conditions décrites, telles qu'elles ont été trouvées en fin de culture.

Les différences que l'on observe entre les racines, au sein de chacune des 4 séries, sont vraiment surprenantes. La diversité porte tout aussi bien sur la

longueur des racines que sur le nombre et la longueur des radicelles. Nous sommes ici en présence d'une variabilité telle qu'il nous paraît téméraire de confronter les résultats en nous basant sur des moyennes.

C'est pourtant ce qu'ont fait couramment Robbins W. J. et ses collaborateurs, M^me^ Galligar, White P. R. et Malyschev.

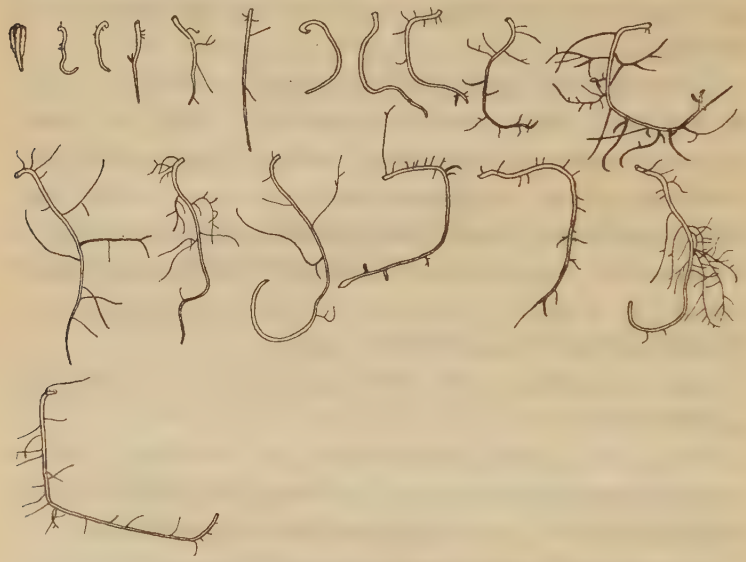


FIG. 4. — Aspects divers, après un mois de culture dans 30 cc. de solution minérale glucosée, de racines maintenues *à l'obscurité en conditions de faible aération.*

Robbins et M^lle^ Galligar prennent la moyenne arithmétique de la longueur de toutes les racines cultivées et la moyenne du nombre de toutes les radicelles de toutes les racines. Voici ce que nous obtenons par ce procédé :

1° *Obscurité, faible aération :* longueur moyenne des racines : 4,22 cm.; nombre moyen de radicelles par racine : 13.

2° *Obscurité, bonne aération :* longueur moyenne des racines : 2,8 cm.; nombre moyen de radicelles par racine : 5.

3° *Lumière, faible aération :* longueur moyenne des racines : 3,5 cm.; nombre moyen de radicelles par racine : 9.

4° *Lumière, bonne aération :* longueur moyenne des racines : 3 cm.; nombre moyen de radicelles par racine : 8.

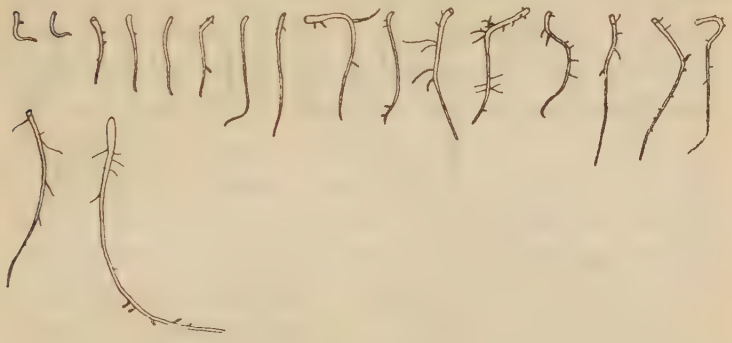


FIG. 5. — Aspects divers, après un mois de culture dans 30 cc. de solution minérale glucosée, de racines maintenues *à l'obscurité en conditions de bonne aération.*

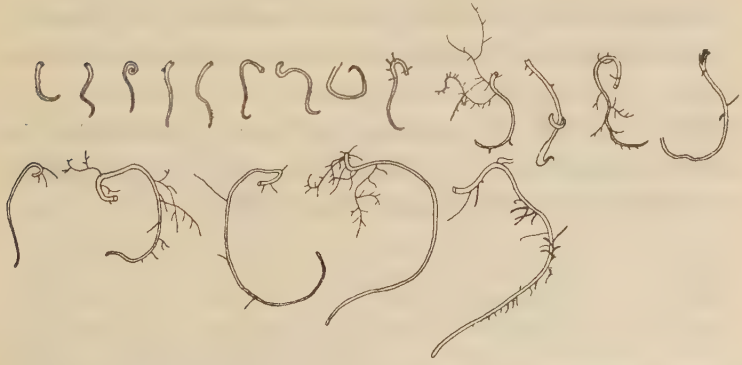


FIG. 6. — Aspects divers, en fin de culture dans 30 cc de solution minérale glucosée, de racines maintenues *à la lumière en conditions de faible aération.*

Ce qu'il importe de retenir c'est que ces longueurs moyennes confondent des racines de 1 cm. à peine avec des racines de 7, 8 et 9 cm.; les nombres moyens de radicelles confondent des racines non ramifiées avec des racines portant 10, 15, 20 et même 30 radicelles. Nous avons cité dans notre historique un passage d'une publication de Robbins et White (1936), où ces auteurs font la moyenne d'écarts encore bien plus considérables : longueur de 4,0 cm. et aucune radicelle contre longueur de 44,1 cm. avec 191 radicelles!

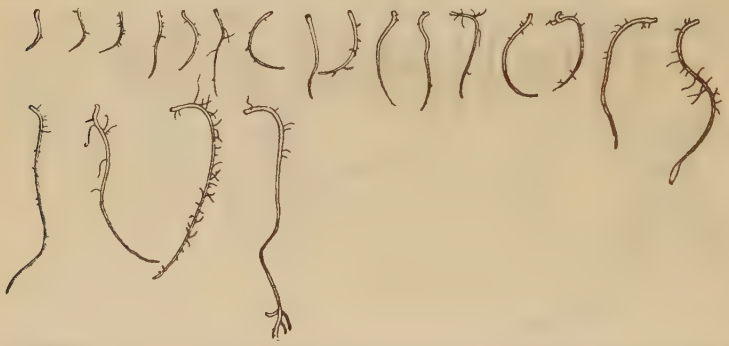


Fig. 7. — Aspects divers, en fin de culture dans 30 cc. de solution minérale glucosée, de racines maintenues *à la lumière en conditions de bonne aération.*

White P. R. s'est basé sur des index de croissance, totalisant pour chaque racine en particulier la longueur de la racine et la longueur de toutes les radicelles. A titre d'exemple, voici, en conditions de faible aération et à l'obscurité, quelques résultats numériques exprimés par ce procédé :

Numéro de la racine	1	6	11	15	16	18
Longueur de la racine (R), mm. ...	11	35	57,5	56,5	73,5	72,5
Longueur des radicelles (r), mm. ...	0	21	249,5	4,0	48,5	122,5
Index de croissance (I=R+r), mm.	11	56	307,0	60,5	122,0	195,0

On voit, par ces chiffres, que l'index de croissance varie considérablement d'une racine à l'autre, dans les mêmes conditions de culture. Semblables résultats seraient obtenus si nous nous adressions aux trois autres séries de culture.

Remarquons que pour des racines de longueur finale comparable (ex. : n° 11 et n° 15; n° 16 et n° 18) la longueur des radicelles modifie complètement la valeur de l'index de croissance. Le procédé des index de croissance pourrait être employé sans restriction si, dans le développement des racines isolées, il se manifestait un équilibre réciproque entre croissance de la racine et croissance des radicelles; mais ce n'est pas le cas, ainsi que nous aurons l'occasion de le montrer au chapitre II.

Malgré les valeurs variables des index de croissance, pour une même série de cultures, faisons pour chaque série la somme de tous les index individuels. Nous aurons ainsi une certaine idée comparative du rendement des cultures.

	R	r	I	Ind. moyen par racine.
1° *Obscurité, faible aération*, mm.	759,5	1223,0	1982,5	111,0
2° *Obscurité, bonne aération*	508,0	199,0	707,0	39,2
3° *Lumière, faible aération*	637,0	573,0	1210,0	67,2
4° *Lumière, bonne aération*	606,5	335,0	941,5	47,0

Ces chiffres nous donnent, en ce qui concerne la croissance totale des inoculums, une approximation bien meilleure que celle donnée par les chiffres de Robbins. Malyschev, qui établissait ses résultats de culture d'après les masses sèches finales des racines, obtient une approximation comparable à celle de White. Mais l'une et l'autre de ces méthodes ne nous renseignent pas au sujet du nombre des radicelles

formées, ni au sujet de la ramification de celles-ci.

Les procédés de Robbins, de White P. R. et de Malyschev ne nous fournissent presque pas de renseignements au sujet du comportement des racines isolées. Cependant, le développement d'une racine ne consiste pas uniquement en un allongement ou en une augmentation de masse. De plus, le développement de la racine et celui des radicelles ne peuvent pas être confondus *a priori* (voir chap. II).

Enfin et surtout, les écarts individuels observés régulièrement dans la culture des racines isolées sont tels que l'emploi du procédé des moyennes fausse les résultats. C'est la raison pour laquelle nous avons décidé de faire l'étude analytique détaillée de ceux-ci.

Envisageons tout d'abord la longueur atteinte par les racines, après un mois de culture.

Dans les conditions de nos expériences, nous considérerons, à première vue, comme médiocre, un allongement de 2 cm. après 30 jours de culture, et comme importante une longueur de 5 cm. après ce même délai. Mettons donc en regard (tableau 2) le nombre de racines mesurant, dans chacune des séries, soit moins de 2 cm., soit de 2 à 5 cm., soit plus de 5 cm. Les résultats s'imposent d'eux-mêmes :

1° A l'obscurité, en milieu peu aéré (18 racines cultivées), 3 racines n'atteignent pas 2 cm. de longueur; 8 mesurent de 2 à 5 cm. et 7 dépassent 5 cm.

2° A l'obscurité, en milieu bien aéré (18 racines cultivées), nous trouvons 6 racines qui ont moins de 2 cm. de longueur; plus de la moitié (11 racines) mesurent de 2 à 5 cm. et 1 seulement a plus de 5 cm. de longueur.

3° A la lumière, soit avec faible aération (18 racines cultivées), soit avec forte aération (20 racines cultivées), un quart (9 racines) n'atteint pas 2 cm.; un peu plus de la moitié (21 racines) mesurent de 2 à 5 cm. et 8 racines dépassent 5 cm. de longueur.

En d'autres termes, *les résultats de culture à la lumière sont comparables en conditions de faible aération et de bonne aération.*

A l'obscurité les résultats sont fort différents en milieux faiblement aérés ou bien aérés : les meilleurs rendements sont observés à l'obscurité, en milieux peu aérés.

Considérons maintenant le nombre de radicelles formées en fin de culture.

Nous pouvons considérer comme médiocre un nombre de radicelles de 1er ordre de 5 r_1 et comme élevé un nombre de 11 r_1. Comparons dans chacune des séries le nombre des racines isolées portant : 0 r_1; de 1 à 5 r_1; de 5 à 11 r_1; 11 r_1 et plus (tableau 3).

A l'obscurité, en milieux peu aérés (18 racines cultivées), 2 racines ne sont pas ramifiées et 6 portent plus de 11 r_1.

A l'obscurité, en milieux bien aérés (18 racines cultivées), 15 racines portent de 1 à 11 r_1; exceptionnellement nous trouvons une fois plus de 11 r_1.

A la lumière, en milieux peu aérés (18 racines cultivées), on observe un tiers de racines non ramifiées; 2 racines seulement portent plus de 11 r_1.

A la lumière, en milieu bien aéré (20 racines cultivées), une seule racine ne s'est pas ramifiée et 3 portent plus de 11 r_1.

Ainsi donc, *à l'obscurité comme à la lumière, les rendements varient ici avec le degré d'aération des milieux. Les meilleurs rendements sont observés à*

l'obscurité en conditions de faible aération; les rendements les moins bons à l'obscurité en conditions de bonne aération.

Un fait curieux à noter est qu'en milieux peu aérés comme en milieux bien aérés, les nombres des racines obtenues dans chaque catégorie de culture sont, à la lumière, l'inverse des nombres obtenus à l'obscurité : 2-6; 6-2 et 3-1; 1-3.

En conclusion de nos observations nous dirons que *le rendement de la culture est le meilleur à l'obscurité en conditions de faible aération; en conditions de bonne aération, il est meilleur à la lumière qu'à l'obscurité;* c'est dans ces conditions que l'on obtient le plus de racines de longueur finale importante et le plus de racines bien ramifiées.

Considérons maintenant dans les quatre séries de culture l'ensemble des racines dont la longueur finale n'excède pas 2 cm.; puis les racines mesurant de 2 à 5 cm. et enfin celles de plus de 5 cm. (voir tableau 4).

Les racines qui n'ont pas atteint 2 cm. de longueur après un mois de culture se sont toujours montrées déficientes au point de vue de la production, de l'allongement et de la ramification des radicelles (moins de 5 r_1, pas de r_2, ni r_3).

Les racines dont la longueur finale dépasse 5 cm. portent toujours plus de 5 r_1, *souvent plus de* 11 r_1; *leurs radicelles peuvent s'allonger et se ramifier.*

Enfin, parmi les racines dont la longueur est comprise entre 2 et 5 cm., on peut observer généralement la ramification la plus abondante.

Nous voyons, dès maintenant, l'avantage de notre procédé d'observation des résultats. Contrairement au procédé des moyennes, qui n'envisage pas, néces-

TABLEAU 2. — **Zea Mays Cinquantino.**
(30 cc. de solution minérale glucosée.)

Comparaison du nombre de racines ayant atteint la même longueur finale en différentes conditions d'éclairement et d'aération.

	Obscurité.		Lumière.	
	Faible aération.	Bonne aération.	Faible aération.	Bonne aération.
Nombre de racines cultivées	18	18	18	20
Nombre de racines de moins de 2 cm.	3	6	4	5
Nombre de racines de 2 à 5 cm.	8	11	10	11
Nombre de racines de plus de 5 cm.	7	1	4	4

TABLEAU 3. — **Zea Mays Cinquantino.**
(30 cc. de solution minérale glucosée.)

Comparaison du nombre de racines présentant le même nombre de radicelles en différentes conditions d'éclairement et d'aération.

	Obscurité.		Lumière.	
	Faible aération.	Bonne aération.	Faible aération.	Bonne aération.
Nombre de racines cultivées	18	18	18	20
Nombre de racines non ramifiées 0 r_1	2	3	6	1
Nombre de racines portant de 1 à 5 r_1	5	8	4	7
Nombre de racines portant de 5 à 11 r_1	5	6	6	9
Nombre de racines portant 11 r_1 et plus	6	1	2	3

TABLEAU 4. — **Zea Mays Cinquantino.**

(Cultures dans 30 cc. de solution minérale glucosée.)

Comparaison du nombre de racines de différentes catégories de longueur finale dans les quatre séries de culture (obscurité faible aération, obscurité bonne aération, etc.).

(Dans chacune des catégories de longueur finale, le nombre des racines est ramené à 100.)

		Obscurité						Lumière					
		Faible aération			Bonne aération			Faible aération			Bonne aération		
	Longueur finale	— de 2 cm.	de 2 à 5 cm.	5 cm. et plus	— de 2 cm.	de 2 à 5 cm.	5 cm. et plus	— de 2 cm.	de 2 à 5 cm.	5 cm. et plus	— de 2 cm.	de 2 à 5 cm.	5 cm. et plus
Production de r_1.	Racines ayant moins de 5 r_1	100	50	—	100	45,5	—	100	60	—	60	45,5	—
	Racines ayant de 5 à 10 r_1	—	37,5	28,6	—	45,5	100	—	40	50	40	45,5	50
	Racines ayant 11 r_1 et plus.	—	12,5	71,4	—	9	—	—	—	50	—	9	50
	Total. . .	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Ramification des r_1.	Racines non ramifiées . .		25	-	33,3	9	—	75	30	—	—	9	—
	Racines portant des r_1 sans r_2	100	25	—	66,7	82	100	25	60	25	100	72,8	50
	Racines portant des r_1 et r_2 sans r_3	—	50	85,7	—	9	—	—	—	25	—	18,2	50
	Racines portant des r_1, r_2 et r_3	—	—	14,3	—	—	—	—	10	50	—	—	—
	Total. . .	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

sairement, les phénomènes dans toute leur complexité, notre méthode analytique met en relief des faits importants.

Nous constatons ainsi que, quelles que soient les conditions de culture, *les racines dont l'allongement est réduit ne présentent que faiblement la faculté de former des radicelles et n'en forment que de premier ordre, tandis que les racines qui se sont fortement allongées peuvent porter de nombreuses radicelles ramifiées.*

Les radicelles se sont notablement allongées et ramifiées lorsque les racines ont été cultivées en tubes; elles sont restées courtes, en flacons d'Erlenmeyer.

*
* *

Malgré l'excellence des résultats obtenus à l'obscurité en conditions de faible aération, nous avons décidé de réaliser nos expériences ultérieures à la lumière en milieux faiblement aérés (sauf indication contraire). De la sorte, nous éviterons les causes d'erreur qui peuvent être apportées par le passage des cultures à la lumière, pendant des délais très courts, lors de la prise des mesures.

CHAPITRE II.

RESULTAT FINAL DE LA CULTURE EN MILIEU « DEFICIENT », DE MERISTEMES RADICULAIRES ISOLES.

Nous allons étudier ici le comportement détaillé des racines isolées en solutions minérales glucosées, dépourvues d'extrait de levure ou de ses succédanés.

Rappelons que la marche de la croissance et de la

ramification des racines au cours de la culture trouvera sa place au *Chapitre IV*.

En premier lieu, nous analyserons le résultat final de la culture de méristèmes provenant de plantules d'âge chronologique différent (3 jours, 6 jours, plantules âgées résultant de la culture d'embryons isolés).

Dans la suite nous verrons ce que les résultats mettent en relief lorsqu'on tient compte de l'âge physiologique des plantules mères, de même que de la vigueur de celles-ci.

Pour ces recherches les cultures ont été faites en flacons d'Erlenmeyer de 250 cc. et contenant 100 cc. de solution minérale glucosée, à raison d'un seul méristème par flacon. La profondeur des solutions est de 2,3 cm. et la surface s'étend sur 53 cm_2.

Les racines ont été cultivées à la lumière artificielle pendant toute la durée de la culture, qui a été d'un mois environ.

A. — Culture des méristèmes et âge chronologique des plantules mères.

1. MÉRISTÈMES PRÉLEVÉS SUR DES PLANTULES DE 3 JOURS.

Nous cultiverons successivement des racines de *Zea Mays* var. *Cinquantino*, *Zea Mays* var. *Blanc des Landes* et *Triticum vulgare*, respectivement graines du commerce, graines sélectionnées et graines de lignée pure.

a) **Zea Mays** var. **Cinquantino.**

56 méristèmes ont été cultivés pendant 27 jours. En fin de culture on observe des écarts individuels considérables, ainsi que l'illustre bien la photo n° 1.

D'une manière générale (voir tableau 5) :

ZEA MAYS CINQUANTINO

Racines cultivées pendant un mois dans 100 cc. de solution minérale glucosée.

Photo 1.

Ces deux racines illustrent bien l'amplitude considérable des résultats de culture.

Photos R. Sauveur.

1° Certaines racines n'ont pas atteint plus de 2 cm. de longueur finale; par contre, d'autres mesurent de 3 à 10, voire 12 cm. La racine qui a réalisé la croissance la plus importante mesure 19,3 cm.; celle qui s'est le moins allongée n'a que 1,8 cm. de longueur.

Sur l'ensemble des 56 racines, 11 mesurent entre 1,5 et 2,9 cm.; 18 entre 3 et 4,9 cm.; 13 entre 5 et 6,9 cm. et 14 plus de 7 cm. (voir tableau 5).

2° Nous trouvons des racines qui sont peu ou pas ramifiées, alors que d'autres portent 20, 30 et 40 r_1.

3° Parfois les r_1 restent courtes (de quelques millimètres seulement) et ne se ramifient pas, alors que d'autres atteignent 2,3, voire 5 cm., et se ramifient abondamment (30, 40, 70 r_2; 10, 20, 30 r_3, etc.).

Dans certains cas le méristème principal et la portion terminale de la racine sont hypertrophiés.

Des résultats aussi hétérogènes sont déroutants. Mais, nous basant sur les constatations que nous avons faites lors de l'expérience précédente, nous observons que, généralement, les racines peu ramifiées (portant moins de 10 r_1) sont précisément celles dont la longueur finale est comprise entre 1,5 cm. et 5 cm. Par ailleurs, c'est exclusivement parmi les racines qui mesurent plus de 5 cm. que l'on trouvera celles qui sont les plus abondamment ramifiées (portant de 10 à 94 r_1).

Partant de ce point de vue, nous allons considérer séparément *le comportement, par rapport à leur ramification, des racines ayant atteint des longueurs finales assez comparables.*

Si l'on n'envisage que les 11 racines mesurant moins de 3 cm., on constate qu'elles ont toutes moins de 15 r_1; 2 portent de 10 à 15 r_1; 7 d'entre elles portent de 1 à 9 r_1; 2 ne sont pas ramifiées.

Parmi les 18 racines de 3 à 4,9 cm., on peut trouver jusqu'à 19 r_1. Il n'y a plus que 1 racine non ramifiée. La majorité (11 racines) porte encore de 1 à 9 r_1; 6 ont de 10 à 19 r_1.

Les résultats prennent une allure toute différente pour les racines de plus de 5 cm. de longueur finale.

Chez celles qui mesurent entre 5 et 6,9 cm., il n'y a plus aucune racine non ramifiée; exceptionnellement, on en trouve 1 avec moins de 9 r_1; 8 de ces racines portent plus de 16 r_1.

Sur les 14 racines dont la longueur dépasse 7 cm., 12 racines ont plus de 20 r_1. Toutes ces racines sont ramifiées; 2 seulement portent moins de 15 r_1.

En ce qui concerne la ramification des radicelles, on constate que sur les 9 racines de moins de 3 cm. qui portent des r_1, 3 portent des r_2 sans r_3, et 2 des r_3. Dans les autres catégories de racines la ramification des radicelles est beaucoup plus fréquente (plus de 70 %). On trouvera au tableau 6 les nombres minimum et maximum de radicelles formées, d'après la longueur finale des racines.

Ainsi donc l'abondance de la ramification varie suivant que l'on s'adresse à des racines de longueurs finales différentes; plus importante est la longueur des racines cultivées, plus grand est le nombre de racines abondamment ramifiées.

Cette constatation n'est cependant valable que *grosso modo;* il persiste malgré tout des exceptions. Au sein des racines de plus de 7 cm. de longueur finale on peut en observer qui ne présentent qu'une dizaine de r_1, alors que le maximum atteint est 94 r_1. C'est ce que montre le tableau 6, dans lequel sont consignés les nombres minimum et maximum de radicelles observés dans chaque catégorie de racines.

TABLEAU 5. — **Zea Mays Cinquantino.**

Répartition des racines diversement ramifiées par rapport à leur longueur finale.

(56 racines cultivées pendant 27 jours, dans 100 cc. de solution glucosée.)

Longueur finale des racines		Moins de 3 cm.	De 3 à 4,9 cm.	De 5 à 6,9 cm.	Plus de 7 cm.
Nombre de racines..		11	18	13	14
Production de r_1.	Nombre de racines non ramifiées	2	1	—	—
	Nombre de racines portant de 1 à 9 r_1	7	11	1	1
	Nombre de racines portant de 10 à 15 r_1 ...	2	4	4	1
	Nombre de racines portant de 16 à 19 r_1 ...	—	2	1	—
	Nombre de racines portant 20 r_1 et plus ...	—	—	7	12
Ramification des r_1.	Nombre de racines non ramifiées	2	1	—	—
	Nombre de racines ne portant que des r_1 ...	4	3	3	4
	Nombre de racines portant des r_1 et r_2	3	12	2	6
	Nombre de racines portant des r_3	2	2	8	4

En somme, chez les racines qui ont atteint sensiblement la même longueur finale l'intensité de la ramification peut être fort différente (voir tableau 7 et fig. 8).

b) **Zea Mays** var. **Blanc des Landes.**

35 méristèmes ont été cultivés pendant 27 jours. En fin de culture les différences individuelles sont beaucoup plus accentuées que chez le *Maïs Cinquan-*

tino, malgré le fait que les graines utilisées ici sont sélectionnées (voir photos 2, 3 et 4).

Alors que des racines ne dépassent pas 2 cm. de longueur finale, il en est qui atteignent 6, 13 ou 33 cm. Leur ramification est également fort variable;

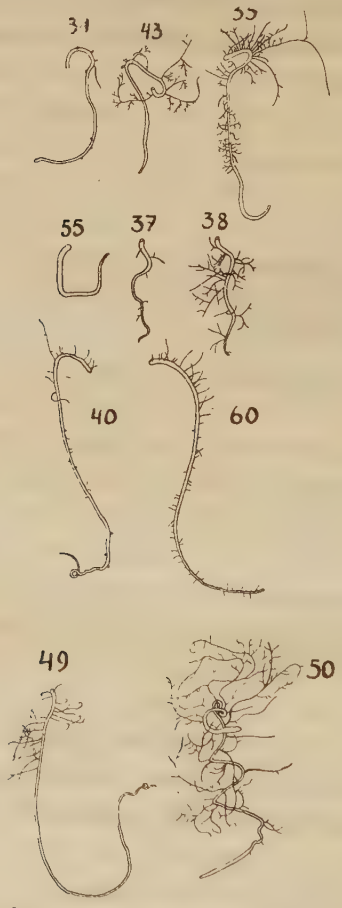


FIG. 8. — Racines de *Zea Mays Cinquantino* après un mois de culture dans 100 cc. de solution minérale glucosée (voir tableau 7). Les racines 31, 43 et 35 mesurent de 5 à 6 cm. — Les racines 55, 37 et 38 mesurent environ 3 cm. — Les racines 40 et 60 mesurent environ 8 cm. — Les racines 49 et 50 mesurent 10,8 cm. Ces racines, qui, dans chacun de ces groupes, ont *la même longueur finale*, sont cependant *très diversement ramifiées*.

TABLEAU 6. — **Zea Mays Cinquantino.**

(Racines cultivées dans 100 cc. de solution minérale glucosée.)

Nombres minimum et maximum de radicelles sur les racines de longueurs finales différentes.

(Les mesures entre parenthèses correspondent à la longueur de la radicelle la plus longue.)

Ordre des radicelles		r_1	r_2	r_3	r_4	r_5
Racines de moins de 2,9 cm.	Min.	0	—	—	—	—
	Max.	13 (0,7 cm.)	10 (0.5 cm.)	4 (0,3 cm.)	1 (0,2 cm.)	—
Racines de 3 à 4,9 cm. . . .	Min.	0	—	—	—	—
	Max.	18 (2,2 cm.)	26 (0,8 cm.)	7 (0,3 cm.)	1 (.)	—
Racines de 5 à 6,9 cm. . . .	Min.	8 (0,4 cm.)	0	—	—	—
	Max.	48 (3,5 cm.)	61 (1,3 cm.)	22 (0,5 cm.)	10 (0,3 cm.)	1 (0,2 cm.)
Racines de 7 cm. et plus . .	Min.	8 (0,4 cm.)	0	—	—	—
	Max.	94 (5 cm.)	75 (1,3 cm.)	31 (0,5 cm.)	—	—

ainsi des racines d'environ 2 cm. de longueur portent jusqu'à 13 r_1. Les radicelles peuvent même faire défaut.

Les deux racines dont la croissance a été la plus importante mesurent 16,7 et 33 cm.; elles portent respectivement 38 r_1 et 121 r_1.

TABLEAU 7. — **Zea Mays Cinquantino.**
(Racines cultivées dans 100 cc. de solution minérale glucosée.)
Racines de longueurs finales comparables présentant divers degrés de ramification (voir fig. 8).

N° de la racine.	Longueur finale.	Nombre de r_1.	Nombre de r_2.	Nombre de r_3.	Nombre de r_4.	Nombre de r_5.
	En cm					
31	5	8	—	—	—	—
43	5,2	10	20	22	10	1
35	6	48	61	1	—	—
55	3	—	—	—	—	—
37	3,1	6	2	—	—	—
38	3,2	15	26	7	—	—
40	8,7	56	—	—	—	—
60	8,9	23	2	—	—	—
49	10,8	22	16	2	—	—
50	10,8	24	75	31	—	—

Une des caractéristiques des racines isolées de *Zea Mays, Blanc des Landes*, est l'importante variation de leur diamètre au cours de la culture. Sur quelques centimètres de longueur il peut se réduire au tiers et même au quart. Souvent les racines dont la longueur finale n'est pas très importante apparaissent hypertrophiées (photos 2 et 3).

ZEA MAYS BLANC DES LANDES

Racines cultivées pendant un mois dans 100 cc. de solution minérale glucosée.

PHOTO 2.

Racines hypertrophiées dès le début de la culture. Elles sont peu ramifiées.

PHOTO 3

Racines ramifiées assez abondamment.

PHOTO 4.

Racine de longueur finale la plus forte.

Ces trois photos montrent bien l'amplitude énorme des écarts individuels.

Photos R. Sauve

En fin de culture les extrémités distales (1) des racines s'hypertrophient; cette hypertrophie peut intéresser une longueur de 2 à 6 cm. (photos 3 et 4).

L'examen de l'ensemble des racines nous amène à les ranger en trois catégories suivant leur longueur finale.

TABLEAU 8. — **Zea Mays Blanc des Landes.**

Répartition des racines diversement ramifiées par rapport à la longueur atteinte en fin de culture.

(35 méristènes cultivés dans 100 cc. de solution minérale glucosée pendant 27 jours.)

	Longueur finale des racines	Moins de 3 cm.	De 3 à 5,9 cm.	Plus de 6 cm.
	Nombre de racines	10	19	6
Production de r_1.	Nombre de racines non ramifiées.	2	2	—
	Nombre de racines portant de 1 à 9 r_1	5	8	1
	Nombre de racines portant de 10 à 19 r_1	3	8	1
	Nombre de racines portant 20 r_1 et plus	—	1	4
Ramification des r_1.	Nombre de racines non ramifiées.	2	2	—
	Nombre de racines ne portant que des r_1	6	8	2
	Nombre de racines ne portant que des r_1 et des r_2	1	8	2
	Nombre de racines portant des r_3	1	1	2

10 racines mesurent moins de 3 cm.; 19 de 3 à 4,9 cm. et 6 enfin de plus de 6 cm. (voir tableau 8).

Parmi les 10 racines qui ont moins de 3 cm. de lon-

(1) Nous appelons distale l'extrémité de la racine portant le méristème terminal.

gueur finale, aucune ne porte plus de 20 r_1; 2 de ces racines ne sont pas ramifiées, la moitié exactement (5) ont de 1 à 9 r_1; 3 enfin montrent de 10 à 19 r_1.

Dans les 19 racines de 3 à 5 cm. on ne trouve plus que 2 racines non ramifiées; 16 ont de 1 à 19 r_1, exceptionnellement 1 a plus de 20 r_1.

Dans les 6 racines de plus de 6 cm., il n'en existe aucune qui ne soit pas ramifiée; 2 présentent de 1 à 19 r_1. 4 racines ont plus de 20 r_1.

En ce qui concerne la ramification des radicelles, *plus la longueur finale de la racine est importante et plus est grand le nombre de racines dont les radicelles sont abondamment ramifiées.*

Le tableau 9, qui donne les nombres minimum et maximum de radicelles observés, montre que de grands écarts individuels existent encore pour chacune des trois catégories de racines. C'est ce qui se remarque encore plus en détail dans le tableau 10, où l'on voit *des racines de longueurs sensiblement comparables être ramifiées fort différemment* (fig. 9).

c) **Triticum vulgare.**

36 méristèmes ont été cultivés pendant 27 jours.

Les résultats sont beaucoup plus cohérents que ceux que nous avons obtenus avec les racines des deux variétés de Maïs.

Cependant, de notables différences se manifestent encore, ainsi qu'on peut s'en rendre compte par les photos 5 et 6. La photo 5 montre des racines dont la longueur est peu importante et dont les radicelles sont courtes; la photo 6, des racines beaucoup plus longues avec des radicelles fortement allongées et ramifiées.

L'examen des photos nous amène à conclure que le

TRITICUM VULGARE

Racines cultivées pendant un mois dans 100 cc. de solution minérale glucosée.

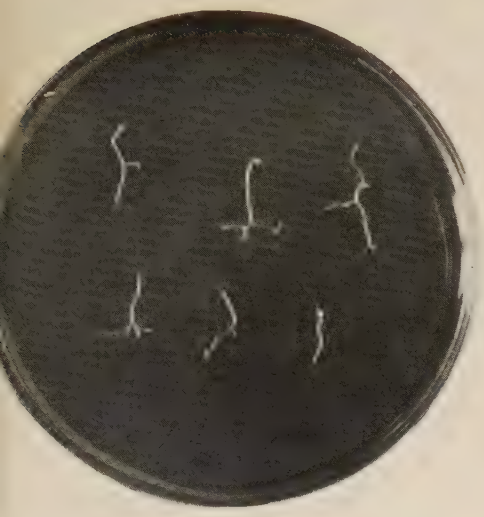


Photo 5.

Photo 6.

Les photos 5 et 6 illustrent l'irrégularité des résultats.

ZEA MAYS CINQUANTINO

Racine cultivée pendant deux mois dans la même solution minérale glucosée.

Photo 7.

On voit qu'à la cessation de la croissance du méristème principal ne correspond pas une cessation de l'allongement des radicelles.

méristème principal a cessé rapidement sa croissance, étant donnée la localisation de radicelles dans ses environs immédiats. La même remarque peut être faite pour le méristème des r_1, dans les environs duquel s'observent très fréquemment des r_2.

La croissance des racines et la production de radicelles sont fort inférieures à celles des racines de Maïs. La longueur finale la plus importante est de 4,8 cm.; le nombre le plus élevé de r_1 est 9 r_1.

La plus faible longueur finale : 1,7 cm. (en dehors de cas de malformation consécutifs à des traumatismes du méristème); les radicelles peuvent faire défaut.

Pour pouvoir interpréter les résultats nous classerons les 36 racines d'après leur longueur finale : racines de moins de 2 cm., racines de 2 à 2,9 cm., de 3 à 3,9 cm. et de 4 à 5 cm. (voir tableau 11).

9 racines mesurent moins de 2 cm.;
15 ont de 2 à 2,9 cm.;
8 ont de 3 à 3,9 cm. et
4 ont de 4 à 5 cm.

Chez les 9 racines de moins de 2 cm. de longueur finale, 5 ne sont pas ramifiées, 4 portent de 1 à 4 r_1.

Les racines qui mesurent plus de 2 cm. sont toutes ramifiées.

Parmi les 15 racines de 2 à 2,9 cm., 12 portent de 1 à 4 r_1; les 3 autres portent de 5 à 8 r_1. Les r_1 s'allongent dans presque tous les cas; elles peuvent atteindre 2,3 et 4,5 cm. Celles qui ne s'allongent pas ne se ramifient pas; les autres peuvent porter de 2 à 13 r_2 (de 0,2 à 2,7 cm.) et de 0 à 8 r_3 (jusqu'à 1,2 cm.).

Parmi les 12 racines de 3 à 5 cm., la moitié présentent de 1 à 4 r_1, l'autre moitié de 5 à 9 r_1.

TABLEAU 9. — **Zea Mays Blanc des Landes.**
(Racines cultivées dans 100 cc. de solution minérale glucosée.)

Nombres minimum et maximum de radicelles par racines de longueurs finales différentes.

(Les mesures entre parenthèses correspondent à la longueur de la radicelle la plus longue.)

Ordre des radicelles		r_1	r_2	r_3
Racines de moins de 2,9 cm.	Min.	0	—	—
	Max.	13 (3,5 cm.)	45 (1,0 cm.)	1 (0,2 cm.)
Rac. de 3 à 5 cm.	Min.	0	—	—
	Max.	23 (3,3 cm.)	30 (2,3 cm.)	1 (⌒)
Racines de plus de 6 cm.	Min.	9 (0,4 cm.)	0	—
	Max.	121 (2,0 cm.)	21 (3,0 cm.)	6 (0,3 cm.)

TABLEAU 10. — **Zea Mays Blanc des Landes.**
(Racines cultivées dans 100 cc. de solution minérale glucosée.)

Racines de longueurs finales comparables et très diversement ramifiées.

N° des racines.	Longueur finale.	Nombre de r_1.	Nombre de r_2.	Nombre de r_3.
10	1,8 cm.	13	45	1
5	2,0 cm.	1	—	—
21	2,3 cm.	11	5	—
9	3,6 cm.	—	—	—
12	3,6 cm.	23	4	—
17	3,6 cm.	10	—	—
20	3,7 cm.	14	30	—
15	6,0 cm.	15	1	—
22	6,0 cm.	26	21	2
3	6,5 cm.	9	—	—

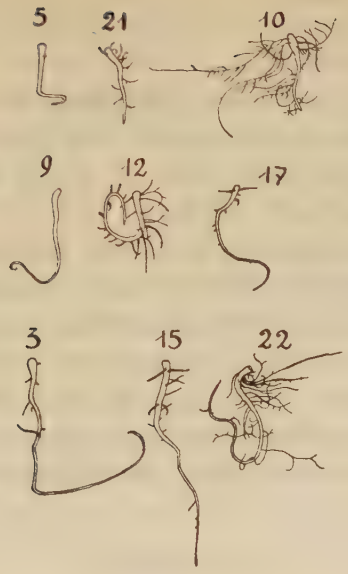


FIG. 9. — Racines de *Zea Mays Blanc des Landes* après un mois de culture dans 100 cc. de solution minérale glucosée (voir tableau 10).

Les racines 5, 21 et 20, 9, 12 et 17, 3, 15 et 22 ont, par groupes de trois, des longueurs finales comparables. *Et pourtant, pour une même longueur finale, elles sont très diversement ramifiées.*

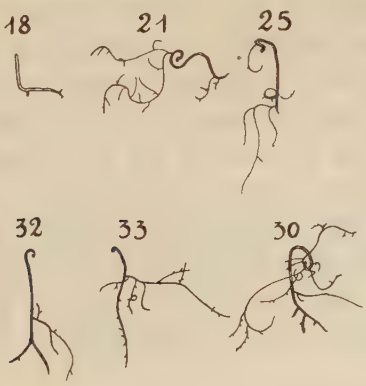


FIG. 10. — Racines de *Triticum vulgare* cultivées un mois dans 100 cc. de solution minérale glucosée.

Les racines 18, 21 et 25 ont la même longueur finale. Elles diffèrent quant à l'abondance de la ramification. Il en est de même pour les racines 32, 33 et 30.

Les r_1 sont longues d'au moins 1 cm. et peuvent en atteindre 4. Elles sont toujours ramifiées, portant de 3 à 15 r_2 et de 0 à 14 r_3.

En ce qui concerne la ramification des radicelles, le tableau 11 montre nettement que plus la longueur finale est importante, plus est grand le nombre de racines portant des r_2 et des r_3.

Donc les résultats de la culture des méristèmes de *Triticum* sont, en somme, fort semblables à ceux que nous avons relevés pour celle de *Zea*, mais les faits sont plus décisifs. Cependant, comme pour les racines de *Maïs*, on observe encore, chez *Triticum*, des racines de même longueur finale qui présentent des degrés de ramification différents (voir tableau 12 et fig. 10).

DISCUSSION.

L'hétérogénéité des résultats est un fait général. Mais l'étude minutieuse que nous avons entreprise nous conduit à des conclusions valables pour les racines isolées de *Zea Mays Cinquantino*, de *Zea Mays Blanc des Landes* et de *Triticum Vulgare*.

En solutions minérales glucosées, après un mois de culture, *les racines de faible longueur finale sont en général les moins ramifiées; celles de longueur finale importante sont en général les plus ramifiées.*

Cependant, des racines peuvent être courtes et porter des radicelles abondantes; d'autres peuvent être longues tout en n'ayant que peu de radicelles.

Enfin, pour des racines de longueur finale comparable, l'abondance de la ramification peut être fort variable.

Si donc, en général, une forte croissance de la racine cultivée s'accompagne d'une abondante pro-

duction de radicelles, ces deux phénomènes ne sont pas nécessairement solidaires.

On aurait pu s'attendre à ce que les racines de faible longueur finale fussent plus fortement ramifiées que les racines les plus longues. Tel n'est pas le cas.

Par ailleurs il peut se faire que la racine la plus longue, dans une série de culture, ne soit pas la plus ramifiée de toutes les racines de cette série. Réciproquement, la plus courte n'est pas toujours la moins ramifiée.

Il n'y a donc pas de rapport de proportionnalité, soit direct, soit inverse, entre longueur finale des racines et abondance de leur ramification. Allongement de la racine et production de radicelles sont deux phénomènes nettement indépendants l'un de l'autre.

Voici déjà des précisions intéressantes que notre étude analytique met clairement en relief, alors que le procédé des moyennes les passe fatalement sous silence.

De plus, nous voyons que pour l'établissement des résultats, c'est faire erreur que de confondre racine et radicelles, d'établir la valeur de la croissance en additionnant à la longueur de la racine la longueur totale des radicelles, etc.

Il faut considérer séparément la croissance de la racine, la production de radicelles sur la racine, la croissance de ces radicelles, leur ramification, la croissance des radicelles de l'ordre supérieur, et ainsi de suite.

La croissance d'une racine ou d'une radicelle dépend de l'activité de son méristème terminal, d'une

part, et de l'élongation des cellules de la zone d'allongement, d'autre part.

La production *de novo* de radicelles sur une racine ou sur une radicelle est un phénomène tout à fait différent de la croissance : il fait intervenir des phénomènes de dédifférenciation et de redifférenciation tissulaires.

TABLEAU 11. — **Triticum vulgare.**

Répartition des racines diversement ramifiées par rapport à la longueur atteinte en fin de culture.

(Méristèmes cultivés dans 100 cc. de solution minérale glucosée (pendant 27 jours.)

Longueur finale des rac.		Moins de 2 cm.	De 2 à 2,9 cm.	De 3 à 3,9 cm.	De 4 à 5 cm.
Nombre de racines		9	15	8	4
Production de r_1.	Nombre de racines non ramifiées	5	—	—	—
	Nombre de racines portant de 1 à 4 r_1	4	12	4	2
	Nombre de racines portant de 5 à 9 r_1	—	3	4	2
Ramification des r_1.	Nombre de racines non ramifiées	5	—	—	2
	Nombre de racines ne portant que des r_1 ...	2	2	—	—
	Nombre de racines portant des r_1 et des r_2.	1	4	—	1
	Nombre de racines portant des r_2	1	9	8	3

En faisant des moyennes globales on concilie des phénomènes inconciliables, et l'on n'obtient pas une idée suffisamment précise des faits observés.

Revenons à nos résultats de culture :

1° Nous avons vu que les racines de Maïs peuvent atteindre une longueur finale de 10, 20, voire 30 cm. (19 cm. pour Maïs *Cinquantino;* 33 cm. pour Maïs Blanc), alors que celles de Blé ne mesurent jamais plus de 5 cm. Les racines de Maïs peuvent porter plusieurs dizaines de r_1 (97 r_1 pour Maïs *Cinquantino;* 121 r_1 pour Maïs Blanc) ; celles de Blé en ont toujours moins de 10.

TABLEAU 12. — **Triticum vulgare.**

(Racines cultivées dans 100 cc. de solution minérale glucosée.)

Nombres minimum et maximum de radicelles sur les racines isolées de diverses longueurs finales.

(Les mesures entre parenthèses correspondent à la longueur de la radicelle la plus longue.)

Ordre des radicelles		r_1	r_2	r_3	r_4
Racines de moins de 2 cm.	Min.	—	—	—	—
	Max.	3 (2,3 cm.)	6 (0,6 cm.)	1 (0,2 cm.)	—
Racines de 2 à 2,9 cm.	Min.	2 (0,2 cm.)	—	—	—
	Max.	8 (4,5 cm.)	13 (2,7 cm.)	8 (1,2 cm.)	—
Racines de 3 à 3,9 cm.	Min.	3 (1,1 cm.)	3 (0,8 cm.)	1 (⌒)	—
	Max.	9 (4,0 cm.)	13 (2,7 cm.)	9 (0,3 cm.)	2 (⌒)
Racines de 4 à 5 cm.	Min.	5 (1,7 cm.)	5 (0,2 cm.)	6 (0,2 cm.)	—
	Max.	7 (3,0 cm.)	15 (2,2 cm.)	—	—

Les racines de *Zea Mays Cinquantino* présentent, pour la plupart, un aspect normal, même si leur longueur finale est faible. Chez les racines de *Zea Mays*

Blanc des Landes, on observe assez fréquemment une hypertrophie du corps de la racine lorsque la longueur finale est peu importante; d'autres racines de *Zea Mays Blanc des Landes* ne manifestent cette hypertrophie que dans la région terminale des racines ou des radicelles.

L'aspect morphologique des racines de *Triticum Vulgare* est fort différent de celui des racines de Maïs. Cette différence réside, en particulier, dans la localisation de certaines radicelles aux environs immédiats des méristèmes dont la croissance a cessé.

Il s'ensuit que les racines isolées se comportent, en culture, et dans les mêmes conditions de milieu, suivant un mode propre à leur espèce et à leur variété.

On nous objectera que ces différences sont dues au fait que les conditions de culture ne sont pas semblablement appropriées au développement des espèces et variétés que nous avons étudiées; en particulier les racines de *Triticum* n'ont pas été cultivées, apparemment, dans des conditions qui leur soient très favorables.

C'est possible, mais il importe peu, pour notre étude, de cultiver les racines dans les conditions optimales de développement. Remarquons seulement qu'il y a eu des racines de Maïs et de Blé qui — dans les conditions présentes — ont réalisé une croissance et une ramification importantes. Cela ne signifie-t-il pas que les conditions auxquelles les racines ont été soumises sont suffisantes pour en permettre un développement non négligeable?

2° *Pour une espèce donnée les résultats montrent des écarts individuels énormes* dont l'amplitude dépasse les erreurs qu'on accepte généralement en Biologie.

Des écarts individuels ne sont pas atténués par la sélection des graines. Les racines isolées de *Zea Mays Blanc des Landes* (provenant de graines sélectionnées) donnent en général des résultats plus hétérogènes encore que celles de *Maïs Cinquantino* (graines du commerce). Les racines de *Triticum vulgare* (graines de lignée pure) manifestent des écarts du simple au double.

A quelles causes attribuer cette hétérogénéité qui persiste malgré une sélection variétale sévère?

Nous pensons que ce ne sont pas les conditions du milieu qui interviennent ici. Comment expliquer, en effet, que dans des conditions rigoureusement les mêmes, des racines s'allongent beaucoup moins que d'autres, qu'il y en ait de peu ramifiées et de très ramifiées, etc.? Le substrat ne peut être favorable à certains méristèmes, médiocre ou mauvais pour d'autres de la même espèce. De plus, comment comprendre que quand le méristème principal de la racine isolée cesse de croître, les radicelles peuvent encore s'allonger et se ramifier (photo 7)? Si le substrat est insuffisant, le serait-il moins pour les méristèmes des radicelles que pour celui de la racine?

L'hypothèse d'une accumulation, dans le milieu, par la racine, de substances inhibant son propre développement n'est pas non plus défendable. Sinon, tout porte à croire que cette accumulation serait proportionnelle à l'intensité du développement. L'inhibition de la croissance et de la ramification devrait, dès lors, agir en premier lieu sur les pointes radiculaires qui manifestent, au départ, le meilleur développement; on ne trouverait donc pas, en fin de culture, des racines qui se seraient considérablement allongées et ramifiées.

On pourrait penser enfin que les différences de comportement des racines sont dues au fait qu'il n'est pas possible de prélever, lors de l'amputation, des méristèmes exactement de même longueur. Or, il suffirait que la section intéressât une partie plus ou moins grande de la région d'allongement pour que la croissance de la pointe radiculaire s'en ressentît plus ou moins.

Gautheret a montré l'importance que les traumatismes peuvent exercer sur la croissance des méristèmes isolés et Fiedler a observé que des pointes radiculaires de différentes longueurs, au départ, ne se comportent pas de la même manière *in vitro*.

Cependant, Robbins et ses collaborateurs ont observé des écarts individuels très importants en cultivant des extrémités de racines d'au moins 1 cm., souvent plus, au départ. Et nous, qui n'avons utilisé que des pointes radiculaires de 2 mm., nous constatons le même type de variations.

Ce n'est donc pas non plus dans un défaut de technique qu'il faut rechercher la cause profonde du phénomène.

Nous estimons que ce sont des facteurs internes qui entrent en jeu, facteurs régissant l'activité des méristèmes cultivés et facteurs régissant la néoformation de radicelles sur les racines formées. Les écarts individuels s'expliqueraient par le fait que les méristèmes différeraient notablement les uns des autres vis-à-vis de ces « facteurs ».

C'est sur les méristèmes eux-mêmes qu'il semble que le problème doive être reporté.

2. MÉRISTÈMES PRÉLEVÉS SUR DES PLANTULES DE 6 JOURS.

Nous n'avons plus mis en culture, ici, que des méristèmes de *Zea Mays Cinquantino*. Nous en avons cultivé 83, pendant 27 jours et dans les conditions décrites pour les méristèmes de plantules de 3 jours. En fin de culture, nous observons des écarts individuels importants, depuis les racines en général peu allongées et peu ramifiées jusqu'aux racines abondamment ramifiées; il y a des racines de grande longueur finale et ramifiées assez intensément.

La racine de plus faible longueur finale mesure 1,3 cm. et ne porte aucune radicelle. Les deux racines les plus longues atteignent respectivement 11,5 cm. et 16 cm.; la première porte 19 r_1, la seconde 20 r_1.

Pour les racines plus longues et leur ramification, voir le tableau 13.

Le tableau 14, indiquant les nombres minimum et maximum de radicelles observés sur les racines des diverses catégories, donne une idée de l'amplitude des écarts individuels rencontrés ici. Le tableau 15 en donne le détail.

L'ensemble des résultats confirme donc ceux de la culture des méristèmes prélevés sur des plantules de 3 jours : lorsque les plantules ont 6 jours au moment du prélèvement, *c'est encore parmi les racines qui se sont le plus allongées au cours de la culture qu'on relève le plus de racines abondamment ramifiées.*

Mais ici on observe que les r_1 se sont le plus allongées et le plus ramifiées en r_2 et r_3 chez les racines de 5 à 6,9 cm. de longueur finale.

Il n'a jamais été remarqué de radicelles d'un ordre supérieur au troisième; d'ailleurs, sur l'ensemble des racines isolées de cette expérience, 9,6 % seulement

TABLEAU 13. — **Zea Mays Cinquantino.**
(Méristèmes provenant de plantules de 6 jours.)
Répartition des racines diversement ramifiées par rapport à la longueur atteinte en fin de culture.
(83 méristèmes cultivés.)

Groupe	1 Racines de 1,5 à 2,9 cm.	2 Racines de 3 à 4,9 cm.	3 Racines de 5 à 6,9 cm.	4 Racines de 7 cm. et plus.
Nombre de racines	28	40	9	6
Production de radicelles de premier ordre. — Nombre de racines non ramifiées	7	—	1	—
Production de radicelles de premier ordre. — Nombre de racines portant de 1 à 9 r_1	21	25	2	—
Production de radicelles de premier ordre. — Nombre de racines portant de 10 à 15 r_1 ...	—	11	4	—
Production de radicelles de premier ordre. — Nombre de racines portant de 16 à 19 r_1 ...	—	3	1	1
Production de radicelles de premier ordre. — Nombre de racines portant 20 r_1 et plus ...	—	1	1	5
Ramification des r_1. — Nombre de racines non ramifiées	7	—	1	—
Ramification des r_1. — Nombre de racines ne portant que des r_1 ...	14	18	2	3
Ramification des r_1. — Nombre de racines portant r_1 et r_2 sans r_3.	7	17	5	1
Ramification des r_1. — Nombre de racines portant r_1, r_2 et r_3	—	5	1	2

portent des r_3 (3 r_3 au plus ne mesurant pas plus de 0,3 cm.).

Mettons maintenant en regard les résultats d'ensemble de la culture des méristèmes provenant de plantules âgées de 3 jours avec ceux de méristèmes

provenant de plantules de 6 jours (voir tableau 16).

Tout d'abord l'amplitude des écarts individuels n'est pas la même dans les deux cas. Les méristèmes provenant de plantules de 3 jours semblent, en géné-

TABLEAU 14. — **Zea Mays Cinquantino.**
(Méristèmes provenant de plantules de 6 jours.)
Nombres minimum et maximum de radicelles sur les racines de diverses longueurs finales.

Ordre des radicelles		r_1	r_2	r_3
Racines de moins de 2,9 cm.	Min.	0	—	—
	Max.	9 (3,0 cm.)	4 (0,5 cm.)	0
Rac. de 3 à 4,9 cm.	Min.	1 (⌒)	0	—
	Max.	22 (3,0 cm.)	22 (1,0 cm.)	4 (0,5 cm.)
Rac. de 5 à 6,9 cm.	Min.	0	—	—
	Max.	20 (4,5 cm.)	30 (1,5 cm.)	3 (0,3 cm.)
Racines de 7 cm. et et plus	Min.	19 (0,5 cm.)	0	—
	Max.	36 (1,5 cm.)	17 (0,3 cm.)	2 (⌒)

ral, capables d'atteindre des longueurs finales plus importantes et surtout de former beaucoup plus de radicelles que ceux provenant de plantules de 6 jours. Pour les méristèmes de plantules de 3 jours la plus forte longueur finale est 19,3 cm., contre 16 cm. pour les autres; on peut trouver chez les premiers

$$94\ r_1,\ 75\ r_2 \text{ et } 31\ r_3,$$

tandis que les seconds ne peuvent porter au plus que

$$36\ r_1,\ 30\ r_2 \text{ et } 4\ r_3.$$

Chez les racines isolées provenant de plantules de 6 jours il n'y a ni r_4 ni r_5; chez celles de plantules de 3 jours le nombre de r_4 peut atteindre 10 et il y a r_5.

TABLEAU 15. — **Zea Mays Cinquantino.**
(Méristèmes provenant de plantules de 6 jours.)

Racines qui ont atteint la même longueur finale mais se sont diversement ramifiées.

N° de la racine.	Longueur finale.	Nombre de r_1.	Nombre de r_2.	Nombre de r_3.
61	3,0 cm.	3	—	—
63	3,0 cm.	5	4	—
37	3,0 cm.	11	—	—
47	3,0 cm.	14	2	1
67	5,5 cm.	—	—	—
15	5,0 cm.	6	—	—
57	5,5 cm.	9	17	—
12	5,5 cm.	13	14	3

NOTE. — Un cas vraiment intéressant est celui de la racine n° 67, qui a une longueur finale de 5,5 cm. et ne s'est pas du tout ramifiée. Ceci montre encore très clairement que la ramification des racines est un phénomène tout à fait indépendant de l'allongement, bien que, dans l'ensemble, les racines qui se sont fortement allongées portent souvent de nombreuses radicelles.

Ensuite on trouve parmi les racines isolées provenant de plantules de 3 jours, 48,2 % mesurant plus de 5 cm.; tandis que 18,1 % seulement atteignent la même longueur parmi les racines provenant de plantules de 6 jours.

Enfin, parmi les racines provenant de plantules de 3 jours, 58,9 % de racines présentent plus de 10 r_1, contre 32,6 % chez celles des plantules de 6 jours.

De même le nombre de racines portant des r_2 et des r_3 est de 69,6 % chez les racines provenant de plantules de 3 jours, contre 45,8 % chez les autres

En résumé, les méristèmes provenant de plantules de 3 jours nous donnent des rendements bien plus élevés que ceux des plantules de 6 jours, en ce qui concerne le nombre des racines les plus longues et celui des racines les plus ramifiées.

Quel serait maintenant le rendement de la culture de méristèmes prélevés sur les plantules beaucoup plus âgées? C'est ce que nous allons rechercher.

3. MÉRISTÈMES PRÉLEVÉS SUR DES PLANTULES ÂGÉES RÉSULTANT DU DÉVELOPPEMENT D'EMBRYONS ISOLÉS.

Cultivons des méristèmes de racines principales très longues et très ramifiées. Ces méristèmes seront-ils encore capables d'un allongement appréciable et d'une ramification importante si on les isole des plantules?

Nous avons utilisé pour cette expérience les graines de *Zea Mays Cinquantino* préalablement sélectionnées au point de vue de l'aspect extérieur.

Afin de standardiser le matériel dans la mesure du possible nous avons cultivé *in vitro* et aseptiquement des embryons privés de leur albumen; cette amputation est faite au plus tard après 3 heures d'imbibition des graines (durée minimum de leur désinfection). A ce moment les graines sont extrêmement peu hydratées, et très dures. De la sorte nous séparons les embryons des réserves de la graine avant qu'il se produise de transport appréciable de substances des réserves vers les embryons.

On n'a gardé pour la mise en culture que l'embryon et le scutellum, à l'exclusion de tout autre tissu. Notre but est d'obtenir des plantules étiolées qui ont été privées, au début de la germination, des réserves nutritives et aussi des « microréserves » de la graine.

TABLEAU 16. — **Zea Mays Cinquantino.**

Résultats comparatifs, en fin de culture, des méristèmes provenant de plantules âgées de 3 et 6 jours.

(Racines cultivées un mois dans 100 cc. de solution minérale glucosée.)

	Méristèmes provenant de plantules de 3 jours.	Méristèmes provenant de plantules de 6 jours.
Longueur de la racine la plus courte en fin de culture. .	1,8 cm.	1,3 cm.
Longueur de la racine la plus longue en fin de culture. .	19,3 cm.	16 cm.
Nombre le moins élevé de r_1 en fin de culture	0 r_1	0 r_1
Nombre le plus élevé de r_1, r_2 et r_3 en fin de culture .	94 r_1; 75 r_2; 31 r_3; 10 r_4; 1 r_5	36 r_1; 30 r_2; 4 r_3
Pourcentage de racines mesurant de 1,3 à 2,9 cm. . .	19,7 %	33,7 %
Pourcentage de racines mesurant de 3 à 4,9 cm. . . .	32,1 %	48,2 %
Pourcentage de racines mesurant de 5 à 6,9 cm. . . .	23,2 %	10,85 %
Pourcentage de racines mesurant plus de 7 cm. . . .	25 %	7,25 %
Pourcentage de racines portant de 1 à 9 r_1	35,7 %	57,8 %
Pourcentage de racines portant de 10 à 15 r_1	19,6 %	18,1 %
Pourcentage de racines portant plus de 16 r_1	39,3 %	14,5 %
Pourcentage de racines ne portant que des r_1	25 %	44,6 %
Pourcentage de racines portant des r_1 et r_2 sans r_3 . .	41 %	36,2 %
Pourcentage de racines portant des r_1, r_2 et r_3 . . .	28,6 %	9,6 %
Pourcentage de racines non ramifiées (0 r_1)	5,4 %	9,6 %

Le nombre des racines est ramené à 100.

TABLEAU 17. — **Zea Mays Cinquantino.**

Caractères relevés après 20 jours sur les plantules provenant de la culture « in vitro » et à l'obscurité d'embryons isolés.
(Les plantules sont rangées d'après la longueur de la racine principale.)

Numéro.	Nombre de feuilles.	Longueur du mésocotyle.	Longueur de la racine principale.	Nombre de radicelles de la racine principale.
		En cm.	En cm.	r_1
1	3	4	2,5	9
2	3	4	7	3
3	4	4	8	28
4	3	5	13	75
5	3	7,5	16	15
6	4	4	18	53
7	3	7	19	11
9	3	5	19	59
8	3	5	20	82
10	4	9	23	63
11	3	3	29	41
12	3	2	30	92
13	3	4	31	71
14	4	6	31	129
15	3	6	33	51
16	4	5	33	198
17	4	5	33	156
18	4	4	33	83
19	4	5	33	125
45	3	6	33	85
20	4	4	34	165
21	3	8	36	147
22	3	6	36	100
23	4	3	38	178
24	4	8	39	160
46	3	8	40	185
25	4	3	43	168
26	3	7	45	103
47	3	6	45	184
27	4	6	46	132
48	3	2	46	150
30	3	5	50	234
32	3	4	52	244
28	3	6	52	92
29	3	5	53	243
31	3	7	55	164
33	3	5	58	119
37	3	10	58	109
34	4	6	60	119
35	3	6	60	136
36	3	7,5	60	195
49	3	8	60	187
38	5	6	63	234
39	4	8	68	398
40	4	9	70	262

Les embryons sont placés individuellement dans des flacons d'Erlenmeyer de 250 cc. contenant 30 cc. de solution minérale et 2 % de glucose. Les cultures ont été faites à l'obscurité (afin d'éliminer la photosynthèse) et à 26,5° C. Dans ces conditions, les embryons isolés donnent naissance à des plantules bien développées, grâce, entre autres, à la présence de glucose.

La durée de culture des embryons a été de 20 jours.

Après 2 jours déjà, on observe un début de développement des embryons dont la gemmule et la radicule s'allongent nettement (0,4 cm. environ).

Au vingtième jour les plantules manifestent de fort grandes différences d'aspect (tableau 17).

4 embryons sur 49 ne se sont pas développés.

Il reste ainsi 45 plantules dont 28 portent trois feuilles, 16 quatre feuilles et 1 cinq feuilles. Les dimensions de la portion comprise entre le premier nœud et le sommet de la touffe feuillée varient de 5 cm. jusqu'à 40 cm.; celles du mésocotyle peuvent avoir de 2 à 10 cm. (cette portion peut porter de 0 à 20 racines; dans un cas une de ces racines mesure 34 cm. et porte 96 radicelles de premier ordre).

Au premier nœud il n'est pas rare d'observer de 2 à 9 racines adventives; au second nœud de 1 à 3 racines.

Mais les plus grandes différences entre les plantules résident dans la longueur de la racine principale et dans le nombre de radicelles qu'elle porte. On trouve, sur les plantules, des racines principales dont la longueur varie entre 2,5 cm. et 70 cm., portant de 3 r_1 à 398 r_1.

Aux environs de l'insertion de la racine principale 1, 2 ou 3 racines adventives, préformées dans l'em-

bryon, peuvent atteindre de 12 à 54 cm. et porter de 0 à 106 r_1.

Ces variations nous indiquent bien *les différences individuelles que présentent en culture* in vitro *des embryons isolés, aussi semblables que possible.*

Notons qu'il ne semble pas exister de rapport bien net entre le comportement de ces racines (longueur et ramification), d'une part, et le développement de la pousse feuillée, d'autre part.

Par contre, il existe clairement un rapport entre la longueur de la racine principale et le nombre de r_1 qu'elle porte (voir tableau 17).

Les racines longues

	de 2	à 8	cm.,	portent de	3	r_1	à 28	r_1;
celles de	13	à 20	cm.,	de. . . .	11	r_1	à 82	r_1;
celles de	23	à 30	cm.,	de. . . .	41	r_1	à 92	r_1;
celles de	31	à 40	cm.,	de. . . .	51	r_1	à 198	r_1;
celles de	43	à 50	cm.,	de. . . .	103	r_1	à 234	r_1;
celles de	52	à 58	cm.,	de. . . .	92	r_1	à 244	r_1;
celles de	63	à 70	cm.,	de. . . .	234	r_1	à 398	r_1.

Ces chiffres montrent bien que malgré une variation encore importante dans le nombre de radicelles portées par des racines de longueurs assez comparables, plus les racines sont longues, plus elles sont ramifiées.

Voyons maintenant comment se comportent *in vitro* des méristèmes radiculaires terminaux amputés aux racines principales des plantules obtenues à partir d'embryons isolés. Les méristèmes sont prélevés après 20 jours de culture des embryons. Malheureusement, il ne nous a été possible de cultiver que 5 pointes radiculaires d'environ 1 cm. au départ,

étant données les difficultés de repérer et d'amputer *aseptiquement* le méristème de la racine principale de plantes cultivées dans une enceinte aussi restreinte qu'un flacon d'Erlenmeyer de 250 cc.

TABLEAU 18. — **Zea Mays Cinquantino.**
(Culture d'embryons *in vitro*.)

Longueur et ramification des méristèmes des racines principales isolées à partir de plantules résultant de la culture d'embryons.
(Résultats après 66 jours de culture.)

Plantule expérimentée ...		N° 45.	N° 46.	N° 47.	N° 48.	N° 49.
Nombre de r_1 de la racine mère		33 cm.	40 cm.	45 cm.	46 cm.	60 cm.
Longueur de la racine mère		85 r_1	185 r_1	184 r_1	150 r_1	187 r_1
Longueur de la pointe radiculaire au départ ...		1,1 cm.	1,6 cm.	1,1 cm.	1,5 cm.	1,6 cm.
Longueur de l'extrémité de la racine principale après culture de . .	6 jours .	1,3 cm.	1,6 cm.	1,2 cm.	1,7 cm.	2,0 cm.
	11 jours .	1,3 cm. 1 (⌒)	1,6 cm. 1 (⌒)	1,3 cm. 1 (⌒)	1,8 cm. 2 cm. $r_{(1\ mm.)}$	2,2 cm. 3 cm. $r_{(2\ m}$
	16 jours .	1,4 cm. 1 $r_{1(2\ mm.)}$	1,6 cm. 2 r_1 (⌒)	1,3 cm. 1 r_1 (⌒)	1,8 cm. 2 $r_{1(3\ mm.)}$	2,2 cm. 3 $r_{1(2\ mm}$
	66 jours .	1,4 cm. 1 $r_{1(2\ mm.)}$	1,6 cm. 2 r_1 (⌒)	1,3 cm. 1 r_1 (⌒)	2,1 cm. 5 $r_{1(4\ mm.)}$	2,5 cm. 5 $r_{1(4\ mm}$

Ces 5 pointes provenaient respectivement de racines de 33, 40, 45, 46 et 60 cm. et qui avaient formé 85 r_1, 185 r_1, 184 r_1, 150 r_1 et 187 r_1. Elles ont été cultivées pendant 66 jours dans 100 cc. de solution minérale *glucosée*, à la lumière et à 26,5° C. Le résultat, en fin de culture, est donné au tableau 18.

Ce tableau montre bien que l'allongement des

racines doit être considéré comme nul (au plus 0,5 cm. en 66 jours de culture). On peut cependant observer encore la production de radicelles, mais en très petit nombre (5 r_1 au plus) et très courtes (0,4 cm. au plus).

Nous pouvons conclure de cette expérience que *les méristèmes provenant de plantules étiolées privées dès le début de la germination des réserves normales de la graine et prélevées sur des racines très longues et très ramifiées ne sont plus capables de s'allonger et ne se ramifient que très faiblement en milieux glucosés.*

De plus, les écarts individuels sont nettement atténués.

DISCUSSION.

Les observations faites sur la culture de méristèmes provenant de plantules d'âges chronologiques différents font ressortir un phénomène du plus haut intérêt.

A mesure qu'augmente l'âge chronologique des plantules le rendement de la culture de leur méristème est de moins en moins bon, et l'amplitude des écarts individuels s'atténue de plus en plus.

Ainsi la longueur finale la plus importante étant de 19,3 cm. pour les méristèmes de plantules de 3 jours devient 16 cm. pour les méristèmes de plantules de 6 jours et 0,9 cm. seulement pour les méristèmes provenant de plantules inanitiées. Semblable régression s'observe en ce qui concerne le nombre de radicelles formées.

Tout se passe donc comme si les méristèmes perdaient ce qui est nécessaire à leur croissance et à leur ramification, à mesure qu'on les prélève sur des plantules de plus en plus développées et étiolées. Puisque l'hétérogénéité des résultats devient de moins en

moins perceptibles à mesure que les plantules mères sont plus âgées, il semble aussi que les méristèmes perdent progressivement ce qui cause l'extrême hétérogénéité des résultats de culture lorsque les plantules mères sont peu développées.

On ne s'étonnera donc pas des rendements très faibles de la culture des méristèmes prélevés sur des plantules étiolées et très développées résultant de la croissance d'embryons isolés.

C'est à partir de semblables méristèmes, qui ne semblent plus guère pouvoir croître et donner naissance à de nouvelles pointes méristématiques, qu'il faudrait reprendre toute l'étude des facteurs de croissance et de néoformation radiculaires.

Dans le même ordre de faits, nous sommes parvenu (Delarge [1936]) à faire en sorte que des plantules épuisées de *Crinum Capense* ne puissent plus produire ni feuilles, ni racines, mais des cals de tissu indifférencié.

Nous sommes ici en présence de tests comparables à ceux dont Bouillenne (hypocotyles inanitiés) et Went (entrenœuds de plantules étiolées de *Pisum*) se sont servis pour étudier le pouvoir rhizogénique de différentes substances.

On voit que l'état métabolique des plantules étiolées se continue nettement dans les méristèmes isolés en culture; le comportement de ces méristèmes *in vitro* reste la traduction, la « cristallisation » de cet état métabolique.

Dès maintenant, on devine qu'*il doit y avoir, au départ dans le méristème mis en culture, un certain matériel « définitif », dans les conditions où nous le plaçons. La racine est incapable, dans ces conditions, de le reconstituer.* Il lui faudrait un apport de l'extérieur pour compenser cet appauvrissement.

L'importance du « bagage » emporté par le méristème, au départ, sera confirmée pleinement si nous faisons intervenir l'âge physiologique et la vigueur des plantules mères. C'est ce que nous allons envisager maintenant.

B. — Culture des méristèmes, âge physiologique et vigueur des plantules mères.

Nous reprendrons ici les résultats de culture des racines prélevées sur des plantules âgées de 3 jours et de 6 jours.

1. MÉRISTÈMES PRÉLEVÉS SUR DES PLANTULES DE 3 JOURS.

Au début de notre technique, nous avons insisté sur le fait que, au 3e jour de germination, certaines plantules sont plus avancées que d'autres; entre autres caractéristiques elles présentent des racines principales de différentes longueurs.

Jusqu'à présent nous nous étions servi indistinctement de méristèmes provenant de racines de longueurs différentes. Nous ne nous étions pas arrêté à l'âge physiologique des plantules mères.

Les résultats de la culture de pointes radiculaires des deux variétés de *Zea Mays* et de *Triticum vulgare* vont être envisagés maintenant en tenant compte de la longueur des racines mères au moment du prélèvement du méristème principal destiné à la culture.

a) **Zea Mays** var. **Cinquantino.**

Il a été cultivé, pendant 27 jours, 56 méristèmes, dont :

35 ont été prélevés sur des racines de 2 cm. de long.;
16 » » » 3 cm. »
5 » » » 4 cm. »

Univ. of Arizona Library

Par l'examen du tableau 19 on constate :

1° Que les méristèmes prélevés au nombre de 35 sur des racines de 2 à 2,5 cm. ont donné naissance à 22 racines mesurant moins de 4,9 cm. de longueur finale; il n'y a que 13 racines de plus de 5 cm. (plus du tiers);

2° Que les 16 méristèmes prélevés sur les racines de 3 cm. ont produit 9 racines de plus de 5 cm. de longueur finale (plus de la moitié);

3° Que les 5 méristèmes prélevés sur des racines

TABLEAU 19. — **Zea Mays Cinquantino.**

Répartition des racines (longueur et ramification) par rapport à la longueur de la racine mère dont on a amputé les méristèmes.

(56 racines cultivées dans 100 cc. de solution minérale + 2 % glucose — 26° C. Lumière continue.)

Longueur de la racine dont a été prélevé le méristème		2 à 2,5 cm.	3 cm.	4 cm.
Nombre de racines cultivées		35	16	5
Longueur atteinte en fin de culture.	Nombre de racines mesurant moins de 2,9 cm.	8	3	—
	Nombre de racines mesurant de 3 à 4,9 cm.	14	4	—
	Nombre de racines mesurant de 5 à 6,9 cm.	6	6	1
	Nombre de racines mesurant 7 cm. et plus	7	3	4
Nombre de radicelles de premier ordre en fin de culture.	Nombre de racines non ramifiées (0 r_1)	2	1	—
	Nombre de racines portant de 1 à 9 r_1	14	6	—
	Nombre de racines portant de 10 à 15 r_1	8	2	1
	Nombre de racines portant 16 r_1 et plus	11	7	4

de 4 cm. ont tous formé des racines de plus de 5 cm.; 4 de celles-ci mesurent même plus de 7 cm.

Au point de vue de la production de r_1 ont voit que plus longue est la racine dont les méristèmes proviennent, plus est élevé le pourcentage de racines portant plus de 10 r_1.

Les 51 méristèmes provenant de racines de 2 et de 3 cm. ont formé 3 racines non ramifiées, 20 racines avec de 1 à 9 r_1 Il y a 28 racines qui portent de 10 à 16 radicelles.

Les 5 méristèmes provenant de racines de 4 cm. ont formé toutes racines portant plus de 10 r_1; 4 d'entre elles ont plus de 15 r_1.

Ce sont donc les méristèmes provenant des racines les plus longues au départ qui se sont le mieux comportés. Ils ont donné naissance, pour la plupart, aux racines isolées les plus longues et très ramifiées.

b) **Zea Mays** var. **Blanc des Landes.**

Dans la culture des méristèmes de *Maïs Blanc des Landes*, nous n'avons également utilisé que des méristèmes provenant de racines de 2 cm. et de 4 cm. (35 cultures) :

24 méristèmes proviennent de racines de 2 cm.
11 » » » » » 4 cm.

Le tableau 20 montre que les méristèmes prélevés sur des racines de 2 ou de 4 cm. fournissent sensiblement la même proportion de racines de même longueur finale. Il n'y a qu'une très légère différence (2 %) à l'avantage des méristèmes provenant des racines de 4 cm.

En ce qui concerne la ramification des racines, les méristèmes provenant de racines de 4 cm. ont formé

TABLEAU 20. — **Zea Mays Blanc des Landes.**

Répartition des racines (longueur et ramification) par rapport à la longueur de la racine mère dont on a amputé les méristèmes.

(35 méristèmes cultivés en solutions minérales glucosées.)

Longueur de la racine dont ont été prélevés les méristèmes		2 à 2,5 cm.	4 cm.
Nombre de racines cultivées		24	11
Longueur atteinte en fin de culture.	Nombre de racines mesurant de 1,8 à 2,8 cm.	7	3
	Nombre de racines mesurant de 3 à 5 cm.	13	6
	Nombre de racines mesurant 6 cm. et plus	4	2
Production de radicelles de premier ordre en fin de culture.	Nombre de racines non ramifiées.	4	—
	Nombre de racines portant de 1 à 9 r_1	9	5
	Nombre de racines portant de 10 à 19 r_1	8	4
	Nombre de racines portant 20 r_1 et plus	3	2

un nombre plus élevé de racines isolées bien ramifiées, en comparaison des méristèmes provenant de racines de 2 cm.

Il y a peu de différence entre le comportement des méristèmes prélevés sur les racines de 2 et de 4 cm.; mais *cette différence se manifeste en faveur des méristèmes prélevés sur les racines de 4 cm. de longueur.*

c) **Triticum vulgare.**

Il a été cultivé 35 méristèmes provenant de racines de 2, 3 et 4 cm.

Parmi eux :

14 méristèmes provenant de racines de 2 cm. de long.;
15 » » » 3 cm. »
7 » » » 4 cm. »

Les résultats (tableau 21) sont assez comparables pour les méristèmes de racines de 2, 3 et 4 cm., en ce qui concerne les longueurs finales et la ramification des racines.

TABLEAU 21. — **Triticum vulgare.**

Répartition des racines (longueur et ramification) par rapport à la longueur de la racine mère dont on a amputé les méristèmes.

(36 méristèmes cultivés pendant 27 jours dans 100 cc. de solution minérale glucosée.)

	Longueur de la racine dont ont été prélevés les méristèmes	2 à 2.5 cm.	3 cm.	4 cm.
	Nombre de racines cultivées	14	15	7
Longueur atteinte en fin de culture.	Nombre de racines mesurant moins de 2 cm.	4	3	2
	Nombre de racines mesurant de 2 à 3 cm.	6	7	2
	Nombre de racines mesurant de 3 à 4 cm.	2	3	3
	Nombre de racines mesurant de 4 à 5 cm.	2	2	—
Nombre de radicelles de premier ordre en fin de culture.	Nombre de racines non ramifiées	2	2	1
	Nombre de racines portant de 1 à 5 r_1	8	10	4
	Nombre de racines portant de 5 à 8 r_1	4	3	2

Il semble ici que la longueur de la racine dont on prélève les méristèmes est sans influence sur l'allure générale du résultat.

La conclusion de ces observations faites sur *Zea Mays* et *Triticum vulgare* est la suivante :

Pour ce qui concerne les racines de deux variétés de Maïs on est porté à admettre que les méristèmes prélevés sur des racines de 4 cm. se comportent mieux que ceux qui proviennent de racines plus courtes. Les premiers peuvent donner naissance à des racines plus longues et mieux ramifiées que les racines formées par les seconds. Parmi eux, cependant, il peut se rencontrer des méristèmes qui ont produit des racines peu allongées et peu ramifiées.

Chez *Triticum* les méristèmes semblent se comporter sensiblement de même façon, quelle que soit la longueur de la racine qui les a fournis.

2. MÉRISTÈMES PRÉLEVÉS SUR DES PLANTULES DE 6 JOURS.

Pour la culture de méristèmes de plantules de 6 jours nous ne nous sommes adressé qu'à *Zea Mays Cinquantino*.

Au 6e jour de germination, dans les conditions décrites précédemment, nous trouvons des plantules dont les racines principales mesurent jusqu'à 8 cm. de longueur.

Nous avons mis en culture 83 méristèmes; ces derniers se répartissent comme suit :

20	méristèmes	provenant de racines	de 1 cm.	de long.;
15	»	»	2 cm.	»
6	»	»	3 cm.	»
8	»	»	4 cm.	»
10	»	»	5 cm.	»
9	»	»	6 cm.	»
11	»	»	7 cm.	»
4	»	»	8 cm.	»

Après 27 jours de culture, les résultats d'ensemble varient assez fortement pour les méristèmes provenant de racines de longueurs finales différentes (tableau 22). Mais il n'est pas possible de conclure dans un sens ou dans l'autre. On peut dire tout au moins que les méristèmes de plantules d'âges physiologiques différents donnent des rendements de culture différents. La plus forte proportion de racines les plus allongées a été donnée par les méristèmes

TABLEAU 22. — **Zea Mays Cinquantino.**
(Plantules de 6 jours.)

Répartition des racines de longueurs finales diverses et diversement ramifiées, par rapport à la longueur de la racine dont ont été prélevés les méristèmes.

Longueur (en cm.) de la racine dont on a prélevé les méristèmes . .		1	2	3	4	5	6	7	8
Nombre de racines cultivées . . .		20	15	6	8	10	9	11	4
Longueur finale des racines isolées.	Nombre de racines de 1,3 à 2,9 cm.	5	5	3	3	5	2	4	1
	Nombre de racines de 3 à 4,9 cm.	11	6	2	4	3	7	5	2
	Nombre de racines de 5 à 6,9 cm.	3	1	1	—	2	—	2	—
	Nombre de racines de 7 cm. et plus	1	3	—	1	—	-	—	1
Nombre final des radicelles de 1er ordre sur les racines isolées.	Nombre de racines non ramifiées (0 r_1). . . .	-	1	1	2	3	-	1	—
	Nombre de racines portant de 1 à 9 r_1	12	9	4	4	5	6	5	3
	Nombre de racines portant de 10 à 15 r_1	5	2	—	-	—	3	5	—
	Nombre de racines portant de 16 à 19 r_1	2	—	1	1	1	—	-	—
	Nombre de racines portant 20 r_1 et plus	1	3	—	1	1		—	1

provenant de racines mères de 1 et 2 cm.; la plus forte proportion de racines les plus ramifiées s'observe pour les méristèmes prélevés sur les racines mères de 4 et 8 cm.

Mais les résultats acquièrent une signification importante si nous comparons le rendement de la culture de méristèmes de plantules de 3 jours à celui des méristèmes de plantules de 6 jours, lorsque les plantules ont le même âge physiologique à 3 jours et à 6 jours. En d'autres termes, mettons en parallèle les résultats donnés par des méristèmes de racines de 2, 3 et 4 cm. au 3e jour de germination et les résultats donnés par les méristèmes de racines de 2, 3 et 4 cm. au 6e jour de germination.

Nous faisons donc intervenir ici la *vigueur* des plantules dont les méristèmes ont été cultivés.

L'examen du tableau 23 nous montre clairement que c'est parmi les méristèmes prélevés à des plantules de 3 jours qu'on relève le plus grand nombre de racines les plus longues et les plus ramifiées.

Pour une même vigueur des plantules mères (racines mères de 2, 3 et 4 cm.), les méristèmes paraissent déficients lorsque les plantules ont été moins hâtives, c'est-à-dire lorsqu'elles ont mis 6 jours pour atteindre un âge physiologique que les autres plantules ont atteint en 3 jours.

DISCUSSION.

Nos résultats montrent que :

1° En ce qui concerne les plantules mères âgées de 3 jours et en ce qui concerne *Zea Mays Cinquantino* et *Zea Mays Blanc des Landes*, les méristèmes provenant des plantules les mieux développées (d'âge

TABLEAU 23. — **Zea Mays Cinquantino.**

Résultats comparatifs de la culture de méristèmes provenant de plantules de même stade, mais à 3 ou à 6 jours de germination.

(Racines cultivées un mois dans 100 cc. de solution minérale glucosée.)

Longueur des racines dont ont été prélevés les méristèmes		2 cm.		3 cm.		4 cm.	
Age des plantules		3 jours.	6 jours.	3 jours.	6 jours.	3 jours.	6 jours.
Nombre de méristèmes cultivés		35	15	16	6	5	8
Longueur finale des racines isolées.	Racines :	%	%	%	%	%	%
	De 1,3 à 2,9 cm. ...	22,9	33,3	18,75	50	—	37,5
	De 3 à 4,9 cm. ...	40	40	25	33,3	—	50
	De 5 à 6,9 cm. ...	17,1	6,7	37,5	16,7	20	—
	De 7 cm. et plus ...	20	20	18,75	—	80	12,5
Nombre final de r_1 sur les racines isolées.	Racines portant :	%	%	%	%	%	%
	0 r_1	5,7	6,7	6,25	16,7	—	25
	De 1 à 9 r_1	40	60	37,5	66,6	—	50
	De 10 à 15 r_1	22,9	13,3	12,5	—	20	—
	Plus de 16 r_1	31,4	20	43,75	16,7	80	25

physiologique plus avancé) se comportent mieux, en culture, que ceux qui proviennent des plantules les moins développées.

2° Pour *Triticum vulgare*, le rendement des cultures de méristèmes ne montre pas de variation sensible avec l'âge physiologique des plantules mères.

3° En ce qui concerne les plantules âgées de 6 jours, les résultats de culture des méristèmes (*Zea Mays Cinquantino*) sont différents suivant l'âge physiologique des plantules mères. Malgré la complexité

des résultats, il semble bien qu'on puisse dire que les meilleurs rendements sont donnés par les méristèmes des plantes d'âge physiologique le moins avancé.

4° Enfin, pour un même âge physiologique des plantules mères, à des âges chronologiques différents, le rendement de la culture des méristèmes est le plus grand pour les plantules mères qui se sont développées avec plus de précocité, plus de vigueur.

De ces faits nous pouvons conclure que *l'état des plantules de* Zea Mays, *lors de l'isolement des méristèmes, a sa répercussion sur la valeur des résultats de culture de ces méristèmes. L'âge physiologique et la vigueur des plantules mères sont des facteurs importants qui agissent, dès la mise en culture des méristèmes, sur la capacité d'allongement et de ramification des pointes radiculaires isolées.*

Remarquons que l'âge physiologique, tel que nous l'avons défini dans notre technique, met en jeu des stades de développement de plantules fort rapprochés. En effet, nous nous sommes basé, pour l'évaluer, sur la longueur des racines principales; les longueurs envisagées diffèrent très peu : 1, 2, 3 ..., 8 cm.

Il s'ensuit que si les rendements de culture peuvent varier de manière importante suivant que les méristèmes proviennent de racines mères de 2, 3 et 4 cm., par exemple, c'est que ces méristèmes de racines de 2 cm. ne sont pas comparables à ceux de racines de 3 et 4 cm., et ainsi de suite.

Les différences de rendement ne peuvent être imputées à des variations survenues dans les conditions expérimentales : les racines ont été cultivées simultanément en conditions standardisées. D'ailleurs, le parallélisme des résultats obtenus pour les deux variétés de *Zea Mays* nous indique indiscutable-

ment que nous sommes en présence d'un phénomène bien caractéristique.

De plus, le fait que les méristèmes de *Triticum* provenant de plantules d'âges physiologiques différents nous donnent des résultats de culture comparables jusque dans le plus petit détail, nous permet d'affirmer qu'il ne s'agit pas, pour le Maïs, de résultats dus au hasard de l'hétérogénéité.

Quant aux méristèmes de *Triticum*, on peut penser que les âges physiologiques envisagés (racines mères de 2, 3 et 4 cm.) sont peut-être trop rapprochés pour qu'on puisse observer des différences suffisamment nettes dans le rendement des cultures.

Pour terminer, attirons l'attention sur un dernier point.

Des méristèmes prélevés sur des plantules de *Zea Mays* du même âge chronologique et du même âge physiologique, bref sur des plantules homologues, aussi semblables que possible, donnent cependant des résultats de culture hétérogènes. Et si même ils donnent naissance à des racines de même longueur finale, il peut se faire que ces racines soient très diversement ramifiées.

Il y a donc malgré tout, dans la culture des méristèmes, une inéluctable hétérogénéité dans le développement individuel. Cela n'indique-t-il pas clairement que *les méristèmes se différencient les uns des autres par des « potentialités » individuelles bien définies?*

*
* *

On pourrait penser, cependant, que l'hétérogénéité observée inéluctablement quand on cultive les méristèmes radiculaires en milieu déficient s'atténue ou

disparaît si l'on fait usage de milieu de culture complet. Cette hypothèse ayant été émise, nous allons, au chapitre suivant, voir ce qu'il en est, en plaçant nos pointes radiculaires dans les mêmes solutions minérales glucosées, mais en les additionnant d'extrait de levure autolysée.

CHAPITRE III.

RESULTAT FINAL DE LA CULTURE DES MERISTEMES RADICULAIRES ISOLES EN MILIEU COMPLET.

Dans les expériences précédentes, nous avons cultivé des méristèmes radiculaires en présence de solutions minérales glucosées, mais dépourvues d'extraits de levure ou de ses succédanés. Ces expériences nous ont appris que les différences individuelles rencontrées dans les résultats doivent être attribuées à des **facteurs internes** (c'est-à-dire à ce qu'apporte chaque méristème lors de la mise en culture) et non à des facteurs de milieu.

Quel sera le comportement de semblables méristèmes cultivés dans ce que les auteurs considèrent comme milieu **complet** ?

Comme nous l'avons fait dans le chapitre précédent, nous envisagerons encore en premier lieu l'influence de l'âge chronologique des plantules mères sur le rendement des cultures. Nous n'observerons plus que des méristèmes provenant de plantules âgées de 3 jours et, d'autre part, de plantules résultant de la culture prolongée d'embryons isolés.

Nous tiendrons compte, ensuite, de l'âge physiologique des plantules mères.

Avant de poursuivre, insistons encore sur la technique utilisée, afin d'éviter toute confusion. Pour les germinations de graine ou d'embryon, le milieu employé ne renferme **jamais** d'extrait de levure. Mais les méristèmes prélevés sur les plantules provenant de ces germinations seront cultivés sur milieux pourvus d'extrait de levure. Ici non plus nous n'avons pas effectué de repiquages successifs de méristèmes cultivés.

Nous nous sommes servi, comme précédemment, de flacons d'Erlenmeyer de 250 cc. et contenant 100 cc. de solution. Les expériences ont été réalisées à 26,5° C. et à la lumière artificielle continue.

Nous rappelons que nous avons utilisé 20 cc. d'extrait de levure de boulangerie par litre de solution.

Dans le présent chapitre, nous nous bornons à l'étude des résultats après un mois de culture.

Notre but actuel est de rechercher si les variations individuelles observées se maintiennent encore lorsque les méristèmes sont cultivés en milieu « complet » ou si, du moins, dans ces conditions, les écarts sont de plus faible amplitude et les résultats plus réguliers.

A. — Culture des méristèmes et âge chronologique des plantules mères.

1. MÉRISTÈMES PRÉLEVÉS SUR DES PLANTULES DE 3 JOURS.

a) **Zea Mays** var. **Cinquantino.**

53 méristèmes ont été cultivés.

Après 27 jours de culture on observe encore une considérable irrégularité d'aspect, d'une racine à l'autre. Nous retrouvons des racines qui se sont peu

allongées et peu ramifiées (photo 8); d'autres qui se sont allongées plus fortement, mais ne présentent pas beaucoup de radicelles (photo 9); d'autres encore qui sont restées courtes et portent de nombreuses radicelles et enfin des racines longues et abondamment ramifiées (photos 10, 11).

Un des caractères frappants des racines cultivées en présence d'extrait de levure est que, en général, elles ont des radicelles fréquemment très allongées et ramifiées.

Souvent les portions terminales des racines sont hypertrophiées. Dans certains cas (photo 9, voir aussi fig. 13) la racine est hypertrophiée à un certain niveau, puis reprend un diamètre normal.

La racine la plus courte mesure 2,1 cm. et ne porte que 1 r_1; la racine la plus longue 21 cm. avec 44 r_1 et 7 r_2. La racine la plus abondamment ramifiée mesure 14,8 cm. et porte 97 r_1 (de 13,5 cm. au plus) et 245 r_2 (de 1 cm. au plus).

Pour pouvoir comprendre les résultats nous classerons encore les racines en diverses catégories suivant leur longueur finale (voir tableau 24).

Il est à remarquer qu'aucune des racines isolées n'a produit de radicelles d'un ordre supérieur au troisième.

Les r_1, *dans les conditions actuelles, peuvent atteindre une longueur parfois considérable* (11, 12, 14, 18 cm.).

Le tableau 25 donne les nombres minimum et maximum de radicelles observés sur les racines des diverses catégories de longueurs finales.

Ces résultats nous indiquent beaucoup plus nettement encore que ceux obtenus sans extrait de levure, que *plus est importante la longueur finale des racines*,

ZEA MAYS CINQUANTINO

Méristèmes cultivés pendant un mois dans 100 cc. de solution minérale glucosée et en présence d'extrait de levure.

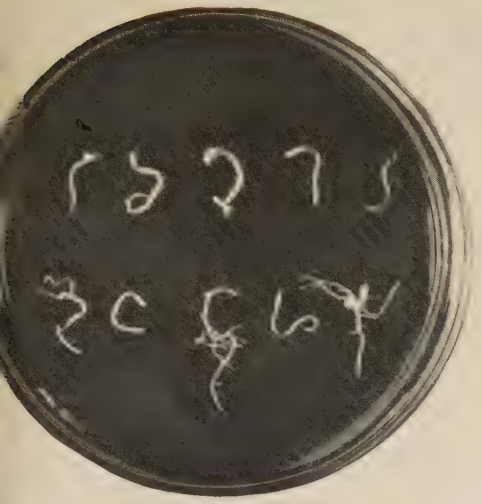


PHOTO 8.

Racines courtes et peu ramifiées.

PHOTO 9.

On distingue nettement une hypertrophie de la racine à environ 2 cm. du méristème terminal.

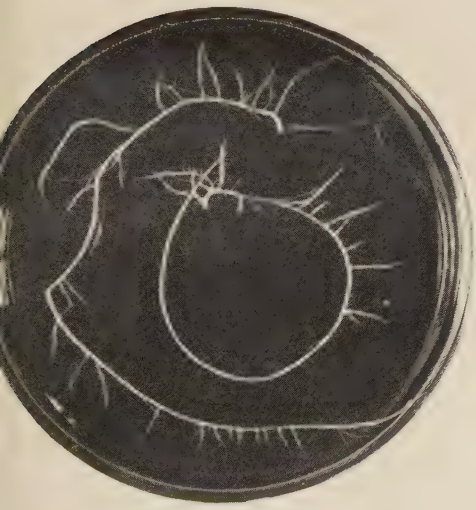


PHOTO 10.

PHOTO 11.

L'un des effets les plus nets de la présence d'extrait de levure dans les milieux est de permettre un allongement considérable de certaines radicelles.

Photos R. Saureur.

TABLEAU 24. — **Zea Mays Cinquantino.**

Répartition des racines diversement ramifiées par rapport à la longueur atteinte en fin de culture.

(53 méristèmes cultivés en solution minérale glucosée avec extrait de levure.)

Longueur atteinte par les racines en fin de culture	De 2 à 2,9 cm.	De 3 à 4,9 cm.	De 5 à 6,9 cm.	De 7 à 10,9 cm.	11 cm. et plus.
Nombre de racines	7	10	11	17	8
Ramification des racines de 1er ordre r_1. — Nombre de racines non ramifiées	1	—	—	—	—
Ramification des racines de 1er ordre r_1. — De 1 à 9 r_1	5	5	3	—	—
Ramification des racines de 1er ordre r_1. — De 10 à 15 r_1	1	3	4	1	—
Ramification des racines de 1er ordre r_1. — De 16 à 30 r_1	—	2	3	8	1
Ramification des racines de 1er ordre r_1. — De 31 à 60 r_1	—	—	1	7	5
Ramification des racines de 1er ordre r_1. — De 61 r_1 et plus	—	—	—	1	2
Ramification des r_1. — Nombre de racines ramifiées	6	10	11	17	8
Ramification des r_1. — r_1 sans r_2	4	4	4	—	—
Ramification des r_1. — r_1 et r_2 sans r_3	2	5	2	10	6
Ramification des r_1. — r_1, r_2 et r_3	—	1	5	7	2

plus augmente le nombre de racines abondamment *ramifiées en* r_1 (portant plus de 16 r_1) *et en radicelles d'ordre supérieur.*

Les différences dans l'abondance de la ramification peuvent être encore extrêmement marquées chez des racines de même longueur finale (tableau 26; fig. 11 et 11bis).

Cependant, on rencontre des racines de 4 à 6 cm. qui ne portent que très peu de radicelles. Exemples non repris dans le tableau 26 :

N° 19 . . . 4,1 cm. . . . 1 r_1
N° 7 . . . 5 cm. . . . 7 r_1
N° 54 . . . 5 cm. . . . 8 r_1
N° 45 . . . 5,8 cm. . . . 4 r_1

TABLEAU 25. — **Zea Mays Cinquantino.**
(Solutions minérales glucosées avec extrait de levure.)
Nombres minimum et maximum de radicelles sur les racines de différentes longueurs finales.

		r_1	r_2	r_3
2 cm.	Min.	0	—	—
à 2,9 cm.	Max.	12 (3,3 cm.)	27 (0,7 cm.)	—
3 cm.	Min.	1 (0,6 cm.)	—	—
à 4,9 cm.	Max.	25 (3,3 cm.)	22 (3,5 cm.)	11 (0,5 cm.)
5 cm.	Min.	4 (0,7 cm.)	—	—
à 6,9 cm.	Max.	33 (8,5 cm.)	34 (3,5 cm.)	31 (0,4 cm.)
7 cm.	Min.	14 (1,5 cm.)	4 (0,3 cm.)	—
à 10,9 cm.	Max.	65 (18,0 cm.)	113 (7,0 cm.)	21 (0,5 cm.)
11 cm.	Min.	25 (2,0 cm.)	7 (0,6 cm.)	—
et plus.	Max.	97 (14,0 cm.)	245 (1,2 cm.)	5 (0,3 cm.)

Mettons en regard les résultats de la culture en milieu complet et ceux de la culture en milieu déficient.

Le tableau 27 compare les données des tableaux 5 et 24; ces derniers concernaient les méristèmes de plantules mères de 3 jours, cultivés respectivement sans et avec extrait de levure.

Il met en relief les faits suivants :

1° En ce qui concerne la longueur atteinte, en fin de culture, par les racines cultivées :

Avec extrait de levure comme sans extrait de levure dans les milieux, on obtient des longueurs finales dont les valeurs s'échelonnent du simple au décuple (sans extrait, de 1,8 cm. à 19,3 cm. de longueur

TABLEAU 26. — **Zea Mays Cinquantino.**
(Solutions minérales glucosées avec extrait de levure.)
Racines de longueurs finales comparables et diversement ramifiées.
(Voir fig. 11 et 11bis.)

Numéro de la racine.	Longueur de la racine mère.	Longueur finale.	Nombre de r_1.	Nombre de r_2.	Nombre de r_3.
	En cm.	En cm.			
46	3	2,7	3	—	—
15	3	2,7	8 (1,0 cm.)	2	—
36	3	2,7	12 (3,3 cm.)	27 (0,7 cm.)	—
9	2	4,2	25 (3,3 cm.)	22 (1,2 cm.)	11
50	2	4,3	2 (1,9 cm.)	1 (0,1 cm.)	—
31	2	4,3	14 (5,5 cm.)	14 (1,5 cm.)	—
8	2	8,7	39 (10 cm.)	107 (2,0 cm.)	21 (0,3 cm.)
33	4	8,5	27 (18 cm.)	95 (7,0 cm.)	—
22	4	8,8	27 (10 cm.)	6 (0,3 cm.)	—
56	2	10,5	50 (13,0 cm.)	113 (1,0 cm.)	—
24	3	10	16 (11,5 cm.)	32 (1,2 cm.)	3 (0,3 cm.)
52	3	10,8	29 (3,3 cm.)	30 (0,7 cm.)	1 (0,2 cm.)

finale; avec extrait, de 2,1 cm. à 21 cm. de longueur finale).

Une plus forte proportion de racines peut atteindre les longueurs finales les plus importantes lorsque la culture est faite en présence d'extrait de levure (sans extrait, 25 racines sur 100 mesurent plus de 7 cm. de longueur finale; avec extrait de levure, ce chiffre monte à 47,2 racines, c'est-à-dire près du double).

2° En ce qui concerne l'abondance de la ramification :

Le nombre maximum de r_1 est le même sans extrait (94 r_1) qu'avec extrait (97 r_1); mais on peut observer

Zea Mays Cinquantino.

Méristèmes cultivés un mois en solutions minérales glucosées (100 cc.) et en présence d'extrait de levure.

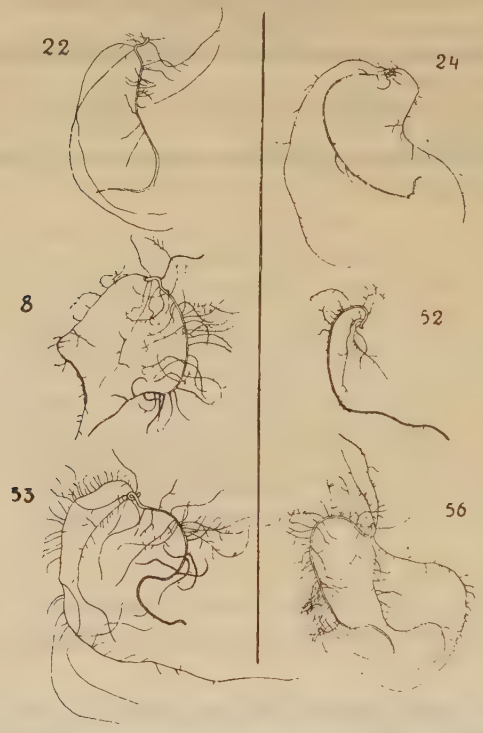


FIG. 11. — Racines de longueurs finales comparables et diversement ramifiées (nos 22, 8, 33, 24, 52, 56) (voir tableau 26).

Zea Mays Cinquantino.

Méristèmes cultivés un mois en solutions minérales glucosées (100 cc.) et en présence d'extrait de levure.

FIG. 11*bis*. — Racines de longueurs finales comparables et diversement ramifiées (nos 46, 15, 36, 50, 9, 31) (voir tableau 26).

TABLEAU 27. — **Zea Mays Cinquantino.**

Résultats comparatifs, en fin de culture, des méristèmes provenant de plantules jeunes et cultivés avec ou sans extrait de levure.

	Sans extrait.	Avec extrait.
Longueur de la racine la plus courte	1,8 cm.	2,1 cm.
Longueur de la racine la plus longue	19,3 cm.	21 cm.
Nombre le moins élevé de r_1, r_2 et r_3	0 r_1; 0 r_2; 0 r_3	0 r_1; 0 r_2; 0 r_3
Nombre le plus élevé de r_1, r_2 et r_3	94 r_1; 75 r_2; 31 r_3; 0 r_4; 1 r_5	97 r_1; 245 r_2; 21 r_3
Longueur maximum observée pour les r_1, r_2 et r_3 . .	r_1 : 5 cm.; r_2 : 1,3 cm.; r_3 : 0,5 cm.; r_4 : 0,3 cm.; r_5 : 0,2 cm.	r_1 : 18 cm.; r_2 : 7 cm.; r_3 : 0,5 cm.
Pourcentage de racines :	%	%
De 1,5 à 2,9 cm.	19,7	13,2
De 3 à 4,9 cm.	32,1	18,9
De 5 à 6,9 cm.	23,2	20,7
De 7 à 10,9 cm.	19,6	32,1
De 11 cm. et plus	5,4	15,1
	%	%
Racines non ramifiées . . .	5,4	1,9
De 1 à 9 r_1	35,7	24,5
De 10 à 15 r_1	19,65	17
De 16 à 30 r_1	17,85	26,45
De 31 à 60 r_1	19,6	24,5
De 61 r_1 et plus	1,8	5,65
	%	%
Racines non ramifiées . . .	5,4	1,9
r_1 sans r_2	25	22,64
r_1 et r_2 sans r_3	41,4	47,15
r_1, r_2, r_3 sans r_4	23,2	28,3
r_1, r_2, r_3, r_4 sans r_5	3,5	—
r_1, r_2, r_3, r_4, r_5	1,8	—

TABLEAU 28. — **Zea Mays Cinquantino.**

Nombres minimum et maximum de radicelles portées par les racines de différentes catégories de longueurs, observés sans ou avec extrait de levure.

(Les mesures entre parenthèses renseignent la longueur de la radicelle la plus longue.)

Racines mesurant en fin de culture.	Sans extrait.		Avec extrait.	
	Minimum.	Maximum.	Minimum.	Maximum.
De 1,5 à 2,9 cm.	0 r_1	13 r_1 (0,7 cm.)	0 r_1	12 r_1 (3,3 cm.)
	0 r_2	10 r_2 (0,5 cm.)	0 r_2	27 r_2 (0,7 cm.)
	0 r_3	4 r_3 (0,3 cm.)	0 r_3	0 r_3
	0 r_4	1 r_4 (0,2 cm.)	—	—
De 3 à 4,9 cm.	0 r_1	18 r_1 (2,2 cm.)	1 r_1 (0,6 cm.)	25 r_1 (3,3 cm.)
	0 r_2	26 r_2 (0,8 cm.)	0 r_2	22 r_2 (3,5 cm.)
	0 r_3	7 r_3 (0,3 cm.)	0 r_3	11 r_3 (0,5 cm.)
	0 r_4	1 r_4 (⌒)	0 r_4	0 r_4
De 5 à 6,9 cm.	8 r_1 (0,4 cm.)	48 r_1 (3,5 cm.)	4 r_1 (0,7 cm.)	33 r_1 (8,5 cm.)
	0 r_2	61 r_2 (1,3 cm.)	0 r_2	34 r_2 (3,5 cm.)
	0 r_3	22 r_3 (0,5 cm.)	0 r_3	31 r_3 (0,4 cm.)
	0 r_4	10 r_4 (0,3 cm.)	0 r_4	0 r_4
	0 r_5	1 r_5 (0,2 cm.)	—	—
De 7 à 10,9 cm.	15 r_1 (0,4 cm.)	44 r_1 (5,0 cm.)	14 r_1 (1,5 cm.)	65 r_1 (18 cm.)
	0 r_2	75 r_2 (1,3 cm.)	4 r_2 (0,3 cm.)	113 r_2 (7,0 cm.)
	0 r_3	31 r_3 (0,5 cm.)	0 r_3	21 r_3 (0,5 cm.)
	0 r_4	0 r_4	0 r_4	0 r_4
11 cm. et plus.	8 r_1 (1,5 cm.)	94 r_1 (0,7 cm.)	25 r_1 (2,0 cm.)	97 r_1 (14 cm.)
	1 r_2 (⌒)	0 r_2	7 r_2 (0,6 cm.)	245 r_2 (1,2 cm.)
	—	0 r_3	0 r_3	5 r_3 (0,3 cm.)

pour les r_2, 245 r_2 avec extrait, contre 75 r_2 seulement sans extrait. Il n'existe pas de r_4 et r_5 sauf en milieu ne contenant pas d'extrait et exceptionnellement.

De plus, le tableau 28, qui consigne les nombres minimum et maximum de radicelles portées par les racines de différentes longueurs finales, sans extrait et avec extrait, nous montre que le nombre des radicelles de divers ordres est aussi variable sur les racines cultivées avec extrait que sans extrait.

La longueur des radicelles est fort différente selon la présence ou l'absence d'extrait de levure dans le milieu de culture. Sans extrait les r_1 mesurent au plus 5 cm. de longueur, mais elles peuvent atteindre 18 cm. avec extrait. Les r_2 qui sans extrait mesurent au plus 1,3 cm. peuvent avoir une longueur de 7 cm. avec extrait. La longueur des r_3 ne varie pas dans l'un et l'autre cas.

Enfin, en présence d'extrait de levure on observe un nombre plus important de racines qui portent plus de 16 r_1 : 39,25 racines sur 100 sans extrait, contre 56,6 racines sur 100 avec extrait. Sous l'influence de l'extrait de levure on voit donc augmenter la proportion de racines qui portent le plus de r_1.

En ce qui concerne le nombre de racines portant des r_1, des r_2 et des r_3, il y a, avec ou sans extrait de levure, la même proportion de racines qui présente des radicelles des différents ordres.

b) **Zea Mays** var. **Blanc des Landes.**

Il a été cultivé 58 méristèmes.

Ici encore les différences individuelles sont fort importantes (photos 12 à 15, après 27 jours de culture).

La racine de moindre longueur finale mesure 1,6 cm. et porte 7 r_1. La plus longue est de 34,5 cm. avec 240 r_1 et 4 r_2.

Le nombre minimum de r_1 est 1 r_1 : aucune racine n'est dépourvue de ramification.

On est frappé ici encore de l'allongement considérable qu'ont manifesté les radicelles, ainsi que de leur intense ramification.

La photo 12 montre que des racines peuvent rester courtes et être fort ramifiées, alors que d'autres peuvent s'allonger sans se ramifier beaucoup (photo 13).

TABLEAU 29. — **Zea Mays Blanc des Landes.**

Répartition des racines diversement ramifiées d'après la longueur atteinte en fin de culture.

(58 méristèmes cultivés dans 100 cc. de solution minérale glucosée avec extrait de levure.)

Longueur atteinte par les racines en fin de culture ...		De 1,6 à 2,9 cm.	De 3 à 4,9 cm.	De 5 à 5,9 cm.	De 6 à 8,9 cm.	De 9 à 14,9 cm.	15 cm. et plus.
Nombre de méristèmes cultivés ...		4	11	9	21	6	7
Nombre de radicelles de 1er ordre r_1.	non ramifiées.	—	—	—	—	—	—
	de 1 à 9 r_1 .	4	1	2	1	—	—
	de 10 à 15 r_1 .	—	9	7	1	—	—
	de 16 à 30 r_1 .	—	1	—	10	1	—
	de 31 à 60 r_1 .	—	—	—	7	4	—
	61 r_1 et plus .	—	—	—	2	1	7
Nombre de racines ramifiées...		4	11	9	21	6	7
Ramification des r_1.	r_1 sans r_2 . .	2	2	2	2	—	—
	r_1 et r_2 sans r_3	1	2	3	5	—	3
	r_1, r_2 et r_3 . .	1	7	4	14	6	4

ZEA MAYS BLANC DES LANDES

Méristèmes cultivés pendant un mois dans 100 cc. de solution minérale glucosée et en présence d'extrait de levure.

PHOTO 12.

PHOTO 13.

PHOTO 14.

PHOTO 15.

Les photos 12 à 15 illustrent bien, elles aussi, la grande diversité de comportement des racines isolées.

(Noter la longueur que peuvent atteindre les radicelles. Comparer aux photos 2, 3 et 4.)

Photos R. Saureur.

Comme dans le cas des méristèmes cultivés en solutions minérales glucosées, nous notons encore de très nettes variations du diamètre des racines au cours de la culture. Nous retrouvons ici encore l'hypertrophie des portions terminales de la racine.

Nous voyons (tableau 29) que dans aucune de ces catégories on ne trouve de racines non ramifiées; que 2 racines seulement ont formé des radicelles de 4e ordre; l'une en a 3, l'autre 1.

Le tableau 30 donne les nombres minimum et maximum de radicelles de divers ordres en fin de cul-

TABLEAU 30. — **Zea Mays Blanc des Landes.**

(Méristèmes cultivés en solution minérale glucosée et en présence d'extrait de levure.)

Nombres minimum et maximum de radicelles sur les racines des différentes catégories de longueurs finales.

Racines.		r_1	r_2	r_3	r_4
De 1,6 à	Min.	1 (—)	—	—	—
2,9 cm.	Max.	8 (4,0 cm.)	19 (1,8 cm.)	1 (0,2 cm.)	—
De 3 à	Min.	2 (1,0 cm.)	—	—	—
4,9 cm.	Max.	28 (4,5 cm.)	152 (2,3 cm.)	30 (1,3 cm.)	—
De 5 à	Min.	8 (0,5 cm.)	—	—	—
5,9 cm.	Max.	18 (5,3 cm.)	48 (2,3 cm.)	76 (1,0 cm.)	3 (0,3 cm.)
De 6 à	Min.	9 (1,5 cm.)	—	—	—
8,9 cm.	Max.	62 (6,2 cm.)	240 (3,0 cm.)	13 (0,7 cm.)	1 (0,3 cm.)
De 9 à	Min.	39 (3,0 cm.)	56 (0,8 cm.)	1 (0,2 cm.)	—
14,9 cm.	Max.	60 (11,5 cm.)	162 (2,5 cm.)	30 (1,5 cm.)	—
De 15 cm.	Min.	79 (2,3 cm.)	4 (3 mm.)	—	—
et plus.	Max.	240 (12 cm.)	230 (3,0 cm.)	16 (0,5 cm.)	—

ture; on y voit les écarts présentés dans la ramification de racines de même catégorie.

Une fois de plus nous confirmons le fait *que plus est importante la longueur finale des racines, plus est élevé le nombre de racines abondamment ramifiées.*

Il y a cependant encore des racines qui, malgré une bonne croissance, sont très peu ramifiées.

Ainsi, deux racines de 5 et 5,1 cm. de longeur finale portent chacune 8 r_1 seulement et aucune radicelle d'ordre supérieur. Une autre mesure 7,5 cm. et ne porte que 9 r_1; une dernière enfin mesure 8,3 cm. et ne porte que 14 r_1. Ces deux dernières racines ont des r_1 d'environ 3,5 cm. de longueur.

TABLEAU 31. — **Zea Mays Blanc des Landes.**
(Solutions minérales glucosées en présence d'extrait de levure.)

Racines de longueurs finales comparables et dont le degré de ramification est très différent.

N° de la racine.	Longueur finale.	Nombre de r_1.	Nombre de r_2.	Nombre de r_3.
	En cm.			
28	3,2	2 (1,0 cm.)	1 (0,6 cm.)	—
35	3,4	12 (2,8 cm.)	33 (2,3 cm.)	36 (0,5 cm.)
1	3,2	13 (1,0 cm.)	—	—
40	3,4	14 (4,5 cm.)	26 (2,3 cm.)	3 (0,3 cm.)
37	5	8 (0,5 cm.)	—	—
23	5,3	14 (4,8 cm.)	6 (1,0 cm.)	—
32	5	16 (4,5 cm.)	65 (2,3 cm.)	76 (1 cm.) + 3 r_4 (0,3 cm.)
21	7,5	9 (3,3 cm.)	—	—
27	7,5	36 (4,6 cm.)	94 (0,7 cm.)	4 (0,3 cm.)
46	7,4	62 (3,5 cm.)	123 (1,4 cm.)	—

Ceci montre bien que, malgré des conditions de culture qui semblent excellentes, il est des *méristèmes qui peuvent s'allonger mais ne peuvent donner naissance qu'à un nombre limité de radicelles.*

Le tableau 31 montre qu'ici encore des racines de même longueur finale peuvent différer fortement au point de vue de la ramification.

Comparons maintenant les résultats dont il vient d'être question aux résultats que nous avions consignés au chapitre II en cultivant en milieu dépourvu d'extrait de levure des méristèmes de plantules de 3 jours de *Zea Mays Blanc des Landes.*

Le tableau 32 résume les données des tableaux 8 et 29 :

1° En ce qui concerne la longueur atteinte par les racines en fin de culture :

L'amplitude des écarts individuels est du même ordre, que les racines soient ou non cultivées en présence d'extrait de levure. Les longueurs finales varient de 1,8 cm. à 33 cm. sans extrait de levure et de 1,6 cm. à 34,5 cm. avec extrait de levure.

Cependant, comme ce fut le cas pour *Zea Mays Cinquantino*, en présence d'extrait de levure on voit une plus forte proportion de racines atteindre des longueurs finales importantes (sans extrait de levure 17,1 racines sur 100 mesurent plus de 6 cm. de longueur finale; avec extrait de levure 58,65 racines sur 100 atteignent cette longueur).

2° En ce qui concerne l'abondance de la ramification :

En fin de culture, on observe un nombre maximum de 121 r_1, sans extrait de levure, contre 240 r_1 en présence d'extrait; on a aussi 42 r_2 et 6 r_3 sans

TABLEAU 32. — **Zea Mays Blanc des Landes.**

Résultats comparatifs, en fin de culture, de méristèmes cultivés avec ou sans extrait de levure.

(Méristèmes provenant de plantes jeunes.)

	Sans extrait.	Avec extrait.
Longueur finale de la racine la plus courte	1,8 cm.	1,6 cm.
Longueur finale de la racine la plus longue	33 cm.	34,5 cm.
Nombre le moins élevé de r_1, r_2, r_3	0 r_1; 0 r_2; 0 r_3	1 r_1; 0 r_2; 0 r_3
Nombre le plus élevé de r_1, r_2, r_3, r_4	121 r_1; 45 r_2; 6 r_3; 0 r_4	240 r_1; 240 r_2; 76 r_3; 3 r_4
Longueur maximum observée pour les r_1, r_2, r_3 et r_4.	r_1 : 35 cm.; r_2 : 3 cm.; r_3 : 0,3 cm.	r_1 : 12 cm.; r_2 : 3 cm.; r_3 : 1,5 cm ; r_4 : 0,3 cm.
Pourcentage de racines mesurant :	%	%
De 1,6 à 2,9 cm.	28,6	6,9
De 3 à 5,9 cm.	54,3	34,4
De 6 à 14,9 cm.	11,4	46,55
De 15 cm. et plus	5,7	12,1
	%	%
Racines non ramifiées (0 r_1).	11,4	0
Racines ramifiées, portant :		
De 1 à 9 r_1	40	13,8
De 10 à 30 r_1	42,9	39,65
De 31 à 60 r_1	2,85	31,35
61 r_1 et plus	2,85	15,7
	%	%
Racines non ramifiées	11,4	0
Racines portant :		
Des r_1 sans r_2	45,8	13,8
Des r_1 et r_2 sans r_3	31,4	25,9
Des r_1, r_2 et r_3 sans r_4	11,4	56,9
Des r_1, r_2, r_3 et r_4	0	3,4

extrait contre 240 r_2 et 76 r_3 en présence d'extrait. Il n'y a de rares r_4 qu'en milieux pourvus d'extrait de levure.

Par le tableau 33, qui met en regard les nombres minimum et maximum de racines des diverses catégories de longueurs finales, avec ou sans extrait, on remarque que les écarts individuels restent très importants pour les racines de même catégorie de longueur finale, et cela même lorsque les racines ont été cultivées en présence d'extrait de levure.

TABLEAU 33. — **Zea Mays Blanc des Landes.**

Nombres minimum et maximum de radicelles portées par les racines de différentes catégories de longueurs, observés sans et avec extrait de levure.

(Les mesures entre parenthèses indiquent la longueur de la radicelle la plus longue.)

		Sans extrait.		Avec extrait.	
Racines de 1,6 à 2,9 cm.	0 r_1	13 r_1 (3,5 cm.)	1 r_1 (⌒)	8 r_1 (4,0 cm.)
	0 r_2	42 r_2 (1,0 cm.)	0 r_2	19 r_2 (1,8 cm.)
	0 r_3	1 r_3 (0,2 cm.)	0 r_3	1 r_3 (0,2 cm.)
	0 r_4	0 r_4	0 r_4	0 r_4
Racines de 3 à 5,9 cm.	0 r_1	23 r_1 (3,3 cm.)	2 r_1 (0,5 cm.)	28 r_1 (4,5 cm.)
	0 r_2	30 r_2 (2,3 cm.)	0 r_2	152 r_2 (2,3 cm.)
	0 r_3	1 r_3 (⌒)	0 r_3	76 r_3 (1,0 cm.)
	0 r_4	0 r_4	0 r_4	3 r_4 (0,3 cm.)
Racines de 6 à 14,9 cm.	9 r_1 (0,4 cm.)	26 r_1 (2,0 cm.)	9 r_1 (1,5 cm)	62 r_1 (11,5 cm.)
	1 r_2 (⌒)	21 r_2 (3,0 cm.)	0 r_2	240 r_2 (3,0 cm.)
	0 r_3	6 r_3 (0,3 cm.)	0 r_3	30 r_3 (0,7 cm.)
	0 r_4	0 r_4	0 r_4	1 r_4 (0,3 cm.)
Racines de 15 cm. et plus.	38 r_1 (0,8 cm.)	121 r_1 (1,5 cm.)	79 r_1 (2,3 cm.)	240 r_1 (12 cm.)
	0 r_2	6 r_2 (0,4 cm.)	4 r_2 (0,3 cm.)	230 r_2 (3,0 cm.)
	0 r_3	0 r_3	0 r_3	16 r_3 (0,5 cm.)
	0 r_4	0 r_4	0 r_4	0 r_4

Sous l'influence de l'extrait de levure, enfin, la longueur des radicelles peut augmenter considérablement. Les r_1 qui sans extrait ont atteint une longueur maximum de 3,5 cm. peuvent mesurer 12 cm. dans l'extrait de levure. Les r_3 peuvent atteindre 1,5 cm. en présence d'extrait, alors qu'elles n'ont que 0,3 cm. sans extrait.

L'extrait de levure incorporé aux milieux de culture a pour effet d'augmenter considérablement la proportion de racines qui sont ramifiées. Alors qu'en l'absence d'extrait 5,7 racines sur 100 seulement portent plus de 31 r_1, on en observe 47,05 sur 100 en présence d'extrait.

En ce qui concerne la proportion de racines ramifiées en r_1, r_2, r_3, l'extrait de levure exalte le nombre de ces racines (sans extrait de levure 11,4 racines sur 100 présentent des r_3 et des r_4 contre 60,3 racines sur 100 avec extrait de levure).

c) **Triticum vulgare.**

57 méristèmes ont été cultivés.

La culture des méristèmes de *Triticum* en présence d'extrait de levure donne des résultats beaucoup plus homogènes que ceux des méristèmes de *Zea Mays*, comme nous l'avions déjà constaté sur les cultures en milieux minéraux glucosés.

En fin de culture, il existe cependant encore de grands écarts individuels (photos 16 et 17) en ce qui concerne la longueur et la ramification des racines. Les photos montrent nettement que les portions terminales des racines présentent généralement un diamètre réduit. Souvent les racines sont hypertrophiées par régions.

Les radicelles sont généralement fort peu allongées.

TRITICUM VULGARE

Méristèmes cultivés pendant un mois dans 100 cc. de solution minérale glucosée et en présence d'extrait de levure.

PHOTO 16.

PHOTO 17.

Les photos 16 et 17 donnent une idée des écarts individuels.

(Noter que l'extrait de levure ne favorise pas, ici, l'allongement des radicelles. Comparer photos 5 et 6.)

Photos R. Sauveu

TABLEAU 34. — **Triticum vulgare.**

Répartition des racines diversement ramifiées, par rapport à la longueur atteinte en fin de culture.

(57 méristèmes cultivés dans 100 cc. de solution minérale glucosée, avec extrait de levure.)

Longueur finale des racines	Moins de 2 cm.	De 2 à 2,9 cm.	De 3 à 3,9 cm.	De 4 à 4,9 cm.	5 cm. et plus.
Nombre de méristèmes cultivés	3	6	13	19	16
Nombre de radicelles de 1er ordre r_1 : Racines non ramifiées...	3	—	—	—	—
Nombre de radicelles de 1er ordre r_1 : De 1 à 4 r_1	—	6	6	8	2
Nombre de radicelles de 1er ordre r_1 : De 5 à 8 r_1	—	—	6	10	5
Nombre de radicelles de 1er ordre r_1 : De 9 r_1 et plus ...	—	—	1	1	9
Ramification des r_1 : r_1 sans r_2	—	5	9	9	4
Ramification des r_1 : r_1 et r_2 sans r_3 ...	—	1	3	9	8
Ramification des r_1 : r_1, r_2 et r_3	—	—	1	1	4

La longueur finale minimum observée est de 1,1 cm.; dans ce cas la racine n'est pas ramifiée. La racine la plus longue mesure 8 cm.; elle porte 10 r_1, 21 r_2 et 7 r_3 (tableau 34).

Aucune des racines de moins de 2 cm. n'est ramifiée. Parmi les racines de 2 à 2,9 cm., toutes portent de 1 à 4 r_1. Le tableau 34 permet de conclure qu'*ici encore, plus est importante la longueur finale des racines cultivées et plus on trouve de racines abondamment ramifiées.*

Le tableau 35 indique les nombres minimum et maximum de radicelles sur les racines des 5 catégories de longueurs finales. On y voit une confirmation de la conclusion précédente, et aussi qu'il existe

TABLEAU 35. — **Triticum vulgare.**
(Solution minérale glucosée avec extrait de levure.)

Nombres minimum et maximum de radicelles observées sur les racines de longueurs finales différentes.

		r_1	r_2	r_3	r_4
Moins de	Min.	0	0	0	0
2 cm.	Max.	0	0	0	0
De 2 cm.	Min.	1 (0,2 cm.)	—	—	—
à 2,9 cm.	Max.	4 (1,5 cm.)	2 (0,7 cm.)	—	—
De 3 cm.	Min.	1 (0,2 cm.)	—	—	—
à 3,9 cm.	Max.	10 (3,0 cm.)	16 (2,5 cm.)	5 (0,5 cm.)	3 (0,2 cm.)
De 4 cm.	Min.	2 (0,8 cm.)	—	—	—
à 4,9 cm.	Max.	9 (3,4 cm.)	7 (2,0 cm.)	5 (0,7 cm.)	—
5 cm.	Min.	3 (1,3 cm.)	—	—	—
et plus.	Max.	12 (5,3 cm.)	49 (3,0 cm.)	29 (1,5 cm.)	1 (0,5 cm.)

encore de grands écarts dans les résultats fournis par des racines de même catégorie de longueur finale; de plus, les radicelles restent petites chez les racines dont la longueur finale n'excède pas 2,9 cm. Cette longueur augmente à mesure que l'on s'adresse à des racines de plus forte longueur finale.

Il n'a jamais été observé plus de 12 r_1.

Signalons enfin quelques racines isolées dont la longueur finale est importante et qui n'ont produit qu'un fort petit nombre de radicelles :

N° 24 . . . 3,8 cm. . . . 1 r_1 (2 mm.);
N° 49 . . . 4,3 cm. . . . 2 r_1 (1,3 cm.);
N° 37 . . . 4,2 cm. . . . 3 r_1 (0,8 cm.);
N° 28 . . . 5,3 cm. . . . 3 r_1 (3,3 cm.);
N° 18 . . . 7,2 cm. . . . 5 r_1 (1,3 cm.), etc.

Comparons encore, comme nous l'avons fait pour les deux variétés de Maïs, les résultats de la culture des méristèmes de *Triticum* en milieux déficients et en milieux complets.

Chez les racines isolées de *Triticum vulgare*, l'amplitude des écarts individuels est plus importante en milieux contenant de l'extrait de levure qu'en milieux minéraux glucosés (voir tableau 36).

Sans extrait de levure les valeurs de la longueur finale oscillent entre 1,7 et 4,8 cm.; avec extrait on observe des longueurs de 1,1 à 8 cm.

Mais, comme c'est le cas pour les racines de Maïs, on trouve un nombre de racines d'au moins 4 cm. beaucoup plus élevé en présence d'extrait de levure (61,4 racines sur 100) que sans extrait (11,1 racines sur 100).

En ce qui concerne la ramification des racines, l'extrait n'atténue pas non plus les différences individuelles. Il existe des racines qui ne sont pas ramifiées avec et sans extrait.

Avec extrait les nombres maximum de radicelles observés sont plus élevés que sans extrait : 12 r_1, 49 r_2, 29 r_3 contre 9 r_1, 15 r_2, 9 r_3.

L'examen du tableau 37, qui indique les nombres minimum et maximum de radicelles produites par des racines de la même catégorie de longueur finale, nous indique bien que *l'extrait de levure n'atténue aucunement l'amplitude des écarts.*

Contrairement à ce qui se passe dans le cas des racines de Maïs, l'extrait de levure n'a guère d'action sur l'allongement des radicelles chez les racines de *Triticum.*

L'extrait de levure augmente considérablement le

TABLEAU 36. — **Triticum vulgare.**

Résultats comparatifs, en fin de culture, de méristèmes cultivés avec ou sans extrait de levure.

	Sans extrait.	Avec extrait.
Longueur finale de la racine la plus courte	1,7 cm.	1,1 cm.
Longueur finale de la racine la plus longue...	4,8 cm.	8 cm.
Nombre le moins élevé de r_1, r_2, r_3, r_4	0 r_1; 0 r_2, 0 r_3; 0 r_4	0 r_1; 0 r_2, 0 r_3; 0 r_4
Nombre le plus élevé de r_1, r_2, r_3, r_4	9 r_1; 15 r_2; 9 r_3; 2 r_4	12 r_1; 49 r_2; 29 r_3; 1 r_4
Longueur maximum observée pour les r_1, r_2, r_3, r_4.	r_1 : 4,5 cm.; r_2 : 2,7 cm.; r_3 : 1,2 cm.; r_4 : (·).	r_1 : 5,3 cm.; r_2 : 3 cm.; r_3 : 1,5 cm.; r_4 : 0,5 cm.
Pourcentage de racines mesurant :	%	%
Moins de 2 cm.	25	5,2
De 2 à 2,9 cm.	41,7	10,5
De 3 à 3,9 cm.	22,2	22,9
De 4 à 4,9 cm.	11,1	33,3
De 5 cm. et plus...	—	28,1
	%	%
Racines non ramifiées	13,9	5,2
Racines ramifiées, portant :		
De 1 à 4 r_1	61,1	38,6
De 5 à 8 r_1	25	36,8
9 r_1 et plus	—	19,4
	%	%
Racines non ramifiées	13,9	5,2
Racines ramifiées, portant :		
Des r_1 sans r_2	11,1	47,4
Des r_1, r_2 sans r_3	16,6	36,8
Des r_1, r_2, r_3 sans r_4	52,8	7
Des r_1, r_2, r_3, r_4	5,6	3,6

nombre de racines qui portent plus de 5 r_1; de 25 racines sur 100 sans extrait de levure il devient 56,2 sur 100 en présence d'extrait.

Par contre, c'est en milieux sans extrait que l'on trouve le plus de racines avec r_3 et avec r_4 (58,4 racines sur 100 contre 10,6 racines sur 100 avec extrait).

2. MÉRISTÈMES PRÉLEVÉS SUR DES PLANTULES ÂGÉES RÉSULTANT DE LA CULTURE D'EMBRYONS ISOLÉS.

a) **Zea Mays** var. **Cinquantino.**

Comme dans nos recherches exposées au chapitre II, nous avons isolé et cultivé des embryons de *Zea Mays Cinquantino* dans 30 cc. de solution minérale glucosée (sans extrait de levure).

La durée de la culture des embryons a été de 44 jours. En partant ainsi d'embryons et en prolongeant leur culture avant de prélever les méristèmes de racines, nous possédons un matériel fortement épuisé en réserves. Nous prélevons 6 pointes radiculaires. Elles sont mises chacune dans 100 cc. de solution minérale glucosée et additionnée d'extrait de levure, à la lumière artificielle continue et à 26,5° C.

Ce sont des pointes radiculaires de 2 mm. au plus qui ont été prélevées sur les racines principales de plantules épuisées.

Après 30 jours de culture de ces méristèmes isolés (tableau 38), 2 de ceux-ci sur 6 ne se sont pas allongés; les 4 autres ont formé des racines de 1,1 à 6,5 cm. de longueur avec de 0 à 12 r_1 et parfois jusqu'à 12 r_2. Or, nous avons vu au chapitre II que dans les mêmes conditions expérimentales, mais en l'absence d'extrait de levure dans le milieu de culture des méristèmes, l'allongement n'atteint qu'exceptionnellement 1 cm. et

TABLEAU 37. — **Triticum vulgare.**

Comparaison des nombres maximum et minimum des radicelles portées par des racines cultivées sans ou avec extrait de levure.

	Sans extrait.		Avec extrait.	
Racines de moins de 2 cm.	0 r_1	3 r_1 (2,3 cm.)	0 r_1	0 r_1
	0 r_2	6 r_2 (0,6 cm.)	0 r_2	0 r_2
	0 r_3	1 r_3 (0,2 cm.)	0 r_3	0 r_3
	0 r_4	0 r_4	0 r_4	0 r_4
Racines de 2 à 2,9 cm.	2 r_1 (0,2 cm.)	8 r_1 (4,5 cm.)	1 r_1 (0,2 cm.)	4 r_1 (1,5 cm.)
	0 r_2	13 r_2 (2,7 cm.)	0 r_2	2 r_2 (0,7 cm.)
	0 r_3	8 r_3 (1,2 cm.)	0 r_3	0 r_3
	0 r_4	0 r_4	0 r_4	0 r_4
Racines de 3 à 3,9 cm.	3 r_1 (1,1 cm.)	9 r_1 (4,0 cm.)	1 r_1 (0,2 cm.)	10 r_1 (3,0 cm.)
	3 r_2 (0,8 cm.)	13 r_2 (2,7 cm.)	0 r_2	16 r_2 (2,5 cm.)
	1 r_3 (⌒)	9 r_3 (0,3 cm.)	0 r_3	5 r_3 (0,5 cm.)
	0 r_4	2 r_4 (⌒)	0 r_4	3 r_4 (0,2 cm.)
Racines de plus de 4 cm.	5 r_1 (1,7 cm.)	7 r_1 (3,0 cm.)	2 r_1 (0,8 cm.)	12 r_1 (5,3 cm.)
	5 r_2 (0,2 cm.)	15 r_2 (2,2 cm.)	0 r_2	49 r_2 (3,0 cm.)
	0 r_3	6 r_3 (0,2 cm.)	0 r_3	29 r_3 (1,5 cm.)
	0 r_4	0 r_4	0 r_4	1 r_4 (0,5 cm.)

que les radicelles atteignent le nombre de 5 au maximum.

En présence d'extrait de levure, les méristèmes peuvent donc s'allonger bien mieux que sans extrait; les racines peuvent porter des radicelles plus nombreuses.

Les deux méristèmes qui ne se sont pas allongés sont ceux qui ont été pris sur les racines les plus courtes. Mais il ne semble pas y avoir ici une quelconque relation entre la longueur de la racine mère et le comportement des méristèmes *in vitro*.

On voit, d'après cette expérience, que l'extrait de levure exerce une influence encore plus marquée sur

TABLEAU 38. — **Zea Mays Cinquantino.**

Culture de méristèmes de plantules étiolées provenant de la culture d'embryons.

(Longueur et ramification des racines isolées.)

N° de la culture.		4	5	1	3	2	6
Longueur de la racine mère		31 cm.	24 cm.	37 cm.	42 cm.	65 cm.	75 cm.
Nombre de r_1 de la racine mère...		184	153	98	86, 4 r_2	178	161
Longueur du méristème isolé au départ		0,2 cm.	0,2 cm.	0,2 cm.	0,2 cm.	0,3 cm.	0,2 cm.
Longueur et ramification de la racine isolée au	6e jour. . .	0,2 cm.	0,2 cm.	4 cm. 4 r_1 (0,8 cm.)	0,9 cm. 1 r (0,1 cm.)	0,8 cm.	0,8 cm.
	11e jour. . .	0,2 cm.	0,2 cm.	6,5 cm. 12 r_1 (1,5 cm.) 6 r_2 (1,2 cm.)	1,7 cm. 1 r_1 (0,2 cm.)	1 cm.	0,9 cm. 1 r_1 (0,6 cm.)
	17e jour. . .	0,2 cm.	0,2 cm.	6,5 cm. 12 r_1 (3 cm.) 9 r_2 (1,5 cm.)	2,2 cm. 2 r_1 (0,2 cm.)	1,1 cm.	1,5 cm. 1 r_1 (1,5 cm.)
	30e jour. . .	0,2 cm.	0,2 cm.	6,5 cm. 12 r_1 (5 cm.) 9 r_2 (3 cm.)	2,4 cm. 2 r_1 (0,2 cm.)	1,1 cm.	3,7 cm. 1 r_1 (4,8 cm.) 3 r_2 (⁀)

les méristèmes amputés à des plantules épuisées, que sur les méristèmes prélevés sur de jeunes plantules.

b) **Zea Mays** var. **Blanc des Landes.**

Si l'on cultive des embryons isolés de *Zea Mays Blanc des Landes* dans 30 cc. de solution minérale glucosée, les différences individuelles présentent des écarts énormes.

Un fait intéressant à signaler est que sur 10 embryons cultivés pendant 44 jours, les racines principales mesurent au plus 29 cm., valeur fort inférieure à celle atteinte avec *Zea Mays Cinquantino* (voir tableau 39). Les racines semblent bloquées dans leur croissance, car on trouve des r_1 aux environs immédiats du méristème principal; souvent les racines sont hypertrophiées.

Ici encore le nombre de radicelles est d'autant plus élevé que la racine principale est plus longue (voir chapitre II : *Culture d'embryons*).

Si la racine principale semble nettement être limitée dans son développement, les racines adventives préformées sur l'embryon s'allongent souvent considérablement. C'est ainsi que sur l'embryon n° 3, dont la racine principale n'a atteint que 5,5 cm., les 2 racines adventives préformées mesurent respectivement 1,15 m. et 99 cm.; sur la première de celles-ci il y a 397 r_1.

Les méristèmes des racines principales des plantules (méristème de 2 mm. de longueur au plus) ont été mis en culture pendant un mois dans 100 cc. de solution minérale glucosée additionnée d'extrait de levure. Pendant ce temps aucun d'entre eux n'a manifesté le moindre allongement. Une radicelle de

1,3 cm., non ramifiée, s'est formée sur un de ces méristèmes.

Même en présence d'extrait de levure, il semble bien que les méristèmes provenant de plantules étiolées de Zea Mays Blanc des Landes *ne sont capables d'aucun développement ultérieur* in vitro. *Les racines principales elles-mêmes, lorsqu'elles sont attachées à la plantule, ne paraissent pas pouvoir se développer de manière importante.*

TABLEAU 39. — **Zea Mays Blanc des Landes.**
(Culture d'embryons.)

Longueur et nombre de radicelles de la racine principale.

Longueur de la racine principale.	Nombre de radicelles de la racine principale.	Nombre de racines préformées sur l'embryon, leur longueur et leur nombre de radicelles.
1. Non développée ...	—	—
2 Non développée ...	—	—
3. Non développée ...	—	1 r (13 cm.) ... 45 r_1.
4. 4,5 cm.	8 r_1 (3 cm.)	1 r (115 cm.)... 387 r_1. 1 r (99 cm.), r_1 très considérable (non calculé).
5. 5,5 cm.	22 r_1 (0,3 cm.)	—
6. 6,3 cm.	2 r_1 (2,5 cm.)	—
7. 16 cm.	56 r_1 (2,3 cm.)	—
8. 18 cm.	79 r_1 (2 cm.)	—
9. 19 cm.	87 r_1 (2,5 cm.)	—
10 29 cm.	109 r_1 (3 cm.)	—

DISCUSSION.

Il est indéniable que la présence d'extrait de levure dans les milieux améliore le rendement des cultures. Mais il faut s'entendre sur la manière dont se manifeste cette amélioration.

Parlons tout d'abord des méristèmes provenant de plantules mères âgées de 3 jours.

En présence d'extrait de levure et pour les deux variétés de Maïs, la croissance des méristèmes isolés n'est nullement supérieure à celle que permet le milieu de culture dépourvu d'extrait; les longueurs finales les plus fortes ont la même valeur.

Au contraire, pour le Blé, l'addition d'extrait de levure permet à certaines racines d'atteindre une longueur finale qui est le double de la longueur finale maximum observée en milieu dépourvu d'extrait.

Insistons sur le fait que, pour *Zea Mays* comme pour *Triticum vulgare*, on obtient, malgré la présence d'extrait de levure dans les milieux, des racines dont la longueur, après un mois de culture, n'excède pas 20 cm.!

Une première amélioration consécutive à l'addition d'extrait de levure aux milieux déficients est la suivante : *Quelles que soient l'espèce et la variété cultivées, il y a augmentation de la proportion des racines qui atteignent les longueurs finales les plus importantes et, simultanément, augmentation de la proportion des racines qui sont le plus abondamment ramifiées.* C'est là un effet de l'extrait de levure qui se remarque sur les deux variétés de Maïs et sur le Blé; on peut noter également sur toutes ces racines une hypertrophie des extrémités radiculaires ou de portions de racines beaucoup plus nette et beaucoup plus fréquente que lorsque les milieux sont dépourvus d'extrait.

Mais à part *ces effets qu'on pourrait qualifier de généraux, l'influence de l'extrait de levure se manifeste sur les racines d'espèces et de variétés différentes par des résultats qu'on ne peut plus généraliser.* Le comportement des méristèmes cultivés participe de

caractéristiques de développement propres à chaque espèce ou variété envisagée.

Si l'extrait de levure n'exerce aucune action bienfaisante sur la croissance des racines de Maïs, il provoque, d'autre part, une surproduction de radicelles de premier ordre sur les racines de *Zea Mays Blanc des Landes* et de *Triticum vulgare* (mais pas sur celles de *Maïs Cinquantino!*). Il provoque également une surproduction de r_2 et r_3 sur les racines des deux variétés de Maïs et sur celles de Blé.

Incontestablement, l'effet le plus remarquable que l'extrait de levure exerce sur les racines de *Zea Mays* est de permettre à certaines radicelles de réaliser un allongement réellement considérable. Cette action ne se vérifie pas, par contre, sur les racines de *Triticum*.

Il faut retenir, cependant, en ce qui concerne l'allongement vraiment important des radicelles chez *Zea Mays*, que :

1° Ce n'est que sur certaines racines et non sur toutes les racines cultivées que ce phénomène peut être observé; il existe toujours des racines dont les radicelles, malgré la présence d'extrait de levure dans les milieux, ne s'allongent pas beaucoup plus que lorsque le substrat est dépourvu d'extrait;

2° Que sur les racines qui le manifestent, cet allongement considérable des radicelles n'est pas le fait de toutes les radicelles de ces racines; au même niveau d'une racine on trouve fréquemment, à côté de l'une ou l'autre radicelle fort longue, d'autres radicelles de longueur médiocre.

Il résulte de tout ceci que *l'on observe, dans les milieux pourvus d'extrait de levure, une hétérogénéité des résultats tout aussi considérable que lorsque*

les milieux ne contiennent pas d'extrait. Cette hétérogénéité est même « exagérée » en présence d'extrait de levure, pour les racines de *Triticum vulgare.*

On pourrait nous objecter (White P. R. [div. publ.]; Robbins W. J. et White V. B. [1936, 1937]; Bonner et Addicot [1937]) que la formule de substrat que nous avons utilisée s'est révélée excellente pour le développement illimité *in vitro* de racines de *Lycopersicon esculentum Mill,* mais qu'elle n'a jamais permis jusqu'à ce jour la culture illimitée de fragments radiculaires de *Zea Mays,* ni de *Triticum.* A cette objection nous répondrons que Robbins W. J. et Bartley Schmidt (1938) reconnaissent que si l'on cultive des racines de Tomate dans le milieu complet qui leur est spécialement adapté, et toutes conditions restant rigoureusement les mêmes, on dénote encore une extrême variabilité de comportement individuel.

Des écarts individuels de l'ordre de grandeur du simple au décuple ou de 1 à 20, dans un milieu standard et dans des conditions expérimentales comparables, ne peuvent aucunement s'expliquer par une insuffisance du substrat en facteurs inorganiques ou organiques. Cette hypothèse, si elle est acceptable (mais cependant non encore vérifiée) en ce qui concerne la limitation de la croissance des racines isolées de Maïs et de *Triticum,* n'est pas défendable en ce qui concerne la variabilité des résultats. C'est ce que nous avons déjà dit au chapitre précédent.

Enfin, *les méristèmes ne réagissent pas tous de la même manière à l'action de l'extrait de levure. La « réaction » est fonction de l'espèce, de la variété, et surtout des caractères individuels du méristème.*

Envisageons maintenant les résultats fournis par la

culture des méristèmes prélevés sur les plantules résultant de la culture d'embryons.

Nous avions vu qu'en milieu dépourvu d'extrait de levure la croissance en était nulle et la ramification très peu importante; les écarts individuels étaient extrêmement atténués.

En milieu complet de tels méristèmes manifestent un allongement appréciable; la ramification est plus abondante. Simultanément réapparaît une variabilité non négligeable dans le développement des différents méristèmes. Il ne faut cependant pas se faire illusion concernant ce rendement de culture : la croissance et la ramification dont il est question ici ne sont, en valeur absolue, que d'une importance réduite.

L'addition d'extrait de levure ne semble avoir eu ici que l'effet d'un apport nutritif ou « micronutritif » supplémentaire, sans plus; il en est résulté une certaine croissance et une certaine production de radicelles.

Sous l'action de cet apport, les caractères individuels de chaque méristème ont pu se manifester de nouveau; d'où la réapparition de l'hétérogénéité des résultats.

On voit donc que *la culture de méristèmes en milieu complet nous amène, elle aussi, à conclure à l'existence de facteurs internes responsables du développement des méristèmes isolés.*

B. — Culture des méristèmes et âge physiologique des plantules mères.

Comme nous l'avons fait pour l'étude du comportement des méristèmes radiculaires cultivés en solutions minérales glucosées, nous allons voir les diffé-

rences présentées par des méristèmes prélevés sur des racines de différentes longueurs, lorsque le milieu de culture est additionné d'extrait de levure.

Il ne sera question ici que de méristèmes prélevés sur des plantules mères de 3 jours.

Les méristèmes cultivés dans les expériences rapportées ci-devant provenaient de racines mères mesurant de 2 à 4 cm. Nous envisagerons donc chez *Zea*

TABLEAU 40. — **Zea Mays Cinquantino.**

Répartition des racines de même longueur finale et de même nombre de radicelles, par rapport à la longueur de la racine mère.

(Méristèmes cultivés dans 100 cc. de solution minérale glucosée avec extrait de levure.)

		2 à 2,5 cm.	3 cm.	4 cm.
Longueur de la racine initiale				
Nombre de méristèmes cultivés		23	18	12
Longueur atteinte en fin de culture.	Nombre de racines mesurant :			
	De 2,2 à 2,9 cm. ...	1	5	1
	De 3 à 4,9 cm. ...	6	2	2
	De 5 à 6,9 cm. ...	3	4	4
	De 7 à 10,9 cm. ..	9	5	3
	De 11 cm. et plus ...	4	2	2
Nombre de r_1 produites en fin de culture.	Nombre de racines non ramifiées (0 r_1)	—	1	—
	Nombre de racines portant :			
	De 1 à 9 r_1	5	7	1
	De 10 à 15 r_1	3	2	4
	De 16 à 30 r_1	6	4	4
	De 31 à 60 r_1	6	4	3
	De 61 r_1 et plus... ...	3	—	—

Mays Cinquantino, *Z. Blanc des Landes* et *Triticum vulgare* :

1° Le comportement de méristèmes provenant de racines de 2 cm. de longueur;

2° Le comportement de méristèmes provenant de racines de 3 cm. de longueur;

3° Le comportement de méristèmes provenant de racines de 4 cm. de longueur.

TABLEAU 41. — **Zea Mays Blanc des Landes.**

Répartition des racines de même longueur finale et de même nombre de radicelles, par rapport à la longueur de la racine mère.

(Méristèmes cultivés dans 100 cc. de solution minérale glucosée avec extrait de levure.)

		2 à 2,5 cm.	3 cm.	4 cm.
Longueur de la racine initiale				
Nombre de méristèmes cultivés sur 58		36	18	4
Longueur atteinte en fin de culture.	Nombre de racines mesurant :			
	De 1,6 à 2,9 cm. ...	2	1	1
	De 3 à 4,9 cm. ...	9	2	—
	De 5 à 5,9 cm. ...	5	3	1
	De 6 à 8,9 cm. ...	13	8	—
	De 9 à 14,9 cm. ...	4	—	2
	De 15 cm. et plus ...	3	4	—
Nombre de r_1 produites en fin de culture.	Nombre de racines non ramifiées (0 r_1)	—	—	—
	Nombre de racines portant :			
	De 1 à 9 r_1	4	3	1
	De 10 à 19 r_1	12	4	1
	De 20 à 39 r_1	8	4	—
	De 40 à 59 r_1	8	2	1
	Plus de 60 r_1	4	5	1

a) **Zea Mays** var. **Cinquantino.**

Le tableau 40 montre nettement que ce sont les méristèmes provenant de racines de 2 cm. environ qui se sont le mieux comportés, tant au point de vue de la longueur finale qu'à celui de la production de radicelles.

Il est curieux de noter que les méristèmes provenant de racines de 3 cm. se sont beaucoup moins bien comportés, à ce point de vue, que ceux qui proviennent de racines de 4 cm. de longueur.

Ce sont donc les méristèmes des racines les plus courtes au départ qui nous ont donné le meilleur rendement en culture.

Sans extrait de levure, le meilleur rendement était donné par les méristèmes provenant des racines les plus longues; avec extrait on observe le meilleur rendement de culture chez ceux qui proviennent des racines les plus courtes.

b) **Zea Mays** var. **Blanc des Landes.**

Comme on peut le voir dans le tableau 41, il semble bien que les méristèmes provenant de racines de 3 cm. se sont mieux comportés que ceux provenant de racines de 2 cm. Ils ont formé un nombre plus important de racines fortement allongées et ramifiées.

Le nombre restreint (4) de méristèmes provenant de racines de 4 cm. ne nous permet aucune conclusion.

En milieu pourvu d'extrait comme en milieu dépourvu d'extrait, le meilleur rendement est donné par les méristèmes provenant des racines les plus longues.

c) **Triticum vulgare.**

Le tableau 42 nous montre nettement que le meilleur rendement en fin de culture a été réalisé par les méristèmes provenant de racines de 3 cm. de longueur.

TABLEAU 42. — **Triticum vulgare.**

Répartition des racines de même longueur finale et de même nombre de radicelles, par rapport à la longueur de la racine mère.

(Méristèmes cultivés dans 100 cc. de solution minérale glucosée avec extrait de levure.)

Longueur de la racine dont ont été prélevés les méristèmes		2 cm.	3 cm.	4 cm.
Nombre de méristèmes		28	18	11
Longueur atteinte en fin de culture.	Nombre de racines mesurant :			
	Moins de 2 cm	1	1	1
	De 2 à 2,9 cm.	3	1	2
	De 3 à 3,9 cm.	11	1	1
	De 4 à 4,9 cm.	7	8	4
	De 5 cm. et plus ...	6	7	3
Nombre de r_1 produites en fin de culture.	Nombre de racines non ramifiées (0 r_1)	1	1	1
	Nombre de racines portant :			
	De 1 à 4 r_1	11	7	4
	De 5 à 8 r_1	10	6	5
	9 r_1 et plus	6	4	1

Quant à la production de r_1, les résultats sont comparables pour les méristèmes provenant de racines de 2 et de 3 cm.; il semble que les méristèmes provenant de racines de 4 cm. sont un peu déficients, comparativement aux autres.

Pour *Triticum*, l'âge physiologique des plantules mères n'influence guère l'allure générale des résultats de culture avec extrait ou sans extrait.

DISCUSSION.

La culture en milieu complet nous confirme ce que nous avons établi en milieu déficient.

L'âge physiologique des plantules mères a une nette répercussion sur les résultats de culture des méristèmes des deux variétés de *Zea Mays*; les méristèmes de *Triticum vulgare* n'y paraissent pas sensibles.

En milieux pourvus d'extrait de levure, le plus qu'on puisse dire est que les méristèmes de Maïs d'âges physiologiques différents donnent des rendements de culture différents. Mais il n'est pas possible de conclure à une supériorité progressive des rendements à mesure qu'augmente ou que diminue l'âge physiologique des plantules.

CHAPITRE IV.

COURBES DE CROISSANCE ET NOMBRE DES RADICELLES AU COURS DE LA CULTURE DES RACINES ISOLEES EN MILIEU DEFICIENT ET EN MILIEU COMPLET.

Dans notre technique, nous avons dit que tous les deux jours environ, nous avons pris les mesures de la longueur des racines isolées et fait la numération de leurs radicelles. Jusqu'ici (chapitres II et III) nous nous sommes attaché exclusivement au résultat final des cultures.

Dans le présent chapitre nous allons rapidement

étudier la cinétique du développement des racines cultivées en solutions minérales glucosées pourvues ou non d'extrait de levure.

a) **Zea Mays** var. **Cinquantino.**

Cultures en solutions minérales glucosées. — Dès le lendemain de la mise en culture, les méristèmes isolés commencent leur activité. Déjà, au cours des tout premiers jours, se manifestent de très grandes différences dans la croissance des racines. Aussi le mode de comportement de ces dernières ne peut-il guère être ramené à un seul type.

Un regard jeté sur les diagrammes (fig. 12) représentant les courbes de croissance (traits pleins) et les courbes des nombres de radicelles (traits interrompus) suffit amplement à faire entrevoir l'extrême complexité des résultats. Toutes ces courbes présentent l'allure générale des courbes de croissance en S mais peuvent être fort différentes l'une de l'autre.

Nous n'entrerons pas dans le détail fastidieux de l'analyse des courbes; le tableau 43 sera consulté pour plus amples renseignements.

Nous nous bornerons ici à faire rapidement la synthèse des résultats.

Les vitesses de croissance, faibles au début de la culture (de 0,0 à 0,7 cm. par jour, pendant les deux premiers jours), augmentent à partir du deuxième jour, conservent une valeur constante jusqu'au 4^{e}, 6^{e} au 8^{e} jour, selon les cas, diminuent alors brusquement et se maintiennent plus ou moins longtemps à la même valeur. Ce plateau des courbes de croissance a été atteint du 6^{e} au 8^{e} jour par les racines de moins de 5 cm. de longueur finale; du 8^{e} au 16^{e} jour

TABLEAU 43. — **Zea Mays Cinquantino.**

Les vitesses de croissance, en centimètres par jour, des racines cultivées dans 100 cc. de solution minérale glucosée.

(Méristèmes provenant de plantules de 3 jours [chap. II].)

Longueurs finales des racines.		De 0 à 2 jours.	De 2 à 4 jours.	De 4 à 6 jours.	De 6 à 8 jours.	De 8 à 10 jours.	De 10 à 13 jours.	De 13 à 16 jours.	De 16 à 19 jours.	De 19 à 23 jours.	De 23 à 28 jours.
		En cm.	En cm.	En cm.	En cm.	En cm.	En cm.	En cm.	En cm.	En cm.	En cm.
Moins de 2,9 cm.	Min.	0,1	0,25	0	0	0	0	0	0	0	0
	Max.	0,25	0,5	0,45	0,15	0,25	0,17	0,07	0,07	0,075	0,04
3 à 4,9 cm.	Min.	0	0,4	0,1	0	0	0	0	0	0	0
	Max.	0,65	1,35	0,7	0,35	0,3	0,13	0,17	0,17	0,025	0,15
5 à 6,9 cm.	Min.	0	0,25	0,4	0,15	0	0	0	0	0	0
	Max.	0,5	1,35	0,9	1,15	1,25	0,2	0,5	0,33	0,23	0,14
7 à 10,9 cm.	Min.	0,05	0,35	0,35	0	0	0	0	0	0	0
	Max.	0,7	1,65	1,95	1,4	0,9	0,33	0,6	0,1	0,3	0,4
Plus de 11 cm.	Min.	0,25	0,65	0,75	0,85	1,45	0	0,33	0	0,05	0,26
	Max.	0,3	1,1	1,2	1,45	1,75	0,26	1,66	0,2	0,8	0,36

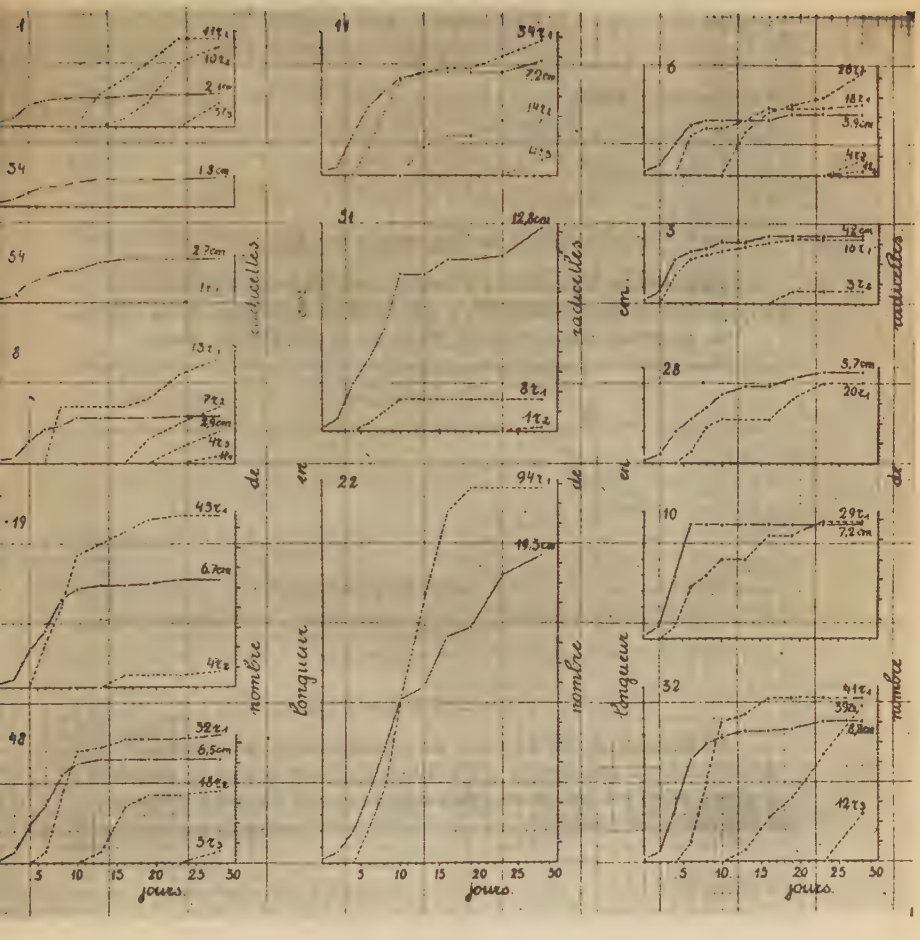


FIG. 12. — Courbes de croissance et du nombre de radicelles de racines isolées de *Zea Mays Cinquantino*, cultivées, un mois, en solutions minérales glucosées. — Ces courbes nous donnent une idée de la diversité du comportement individuel des racines isolées.

par celles de 7 à 10,9 cm. de longueur finale; le 8e jour pour celles de plus de 11 cm. (tableau 44).

Nous pouvons donc dire que jusqu'à l'apparition du plateau que l'on observe sur toutes les courbes de croissance, les fortes vitesses de croissance ont été maintenues plus longtemps chez les racines de longueur finale importante que chez celles de moindre longueur finale.

TABLEAU 44. — **Zea Mays Cinquantino.**

Comparaison des délais d'apparition du premier tableau des courbes de croissance chez les racines cultivées dans 100 cc. de solution dépourvue et pourvue d'extrait de levure.

	Sans extrait.	Avec extrait.
Racines de moins de 5 cm. de longueur finale	Du 6e au 8e jour	Du 5e au 12e jour
Racines de 5 à 7 cm. de longueur finale	Du 6e au 10e jour	Du 8e au 14e jour
Racines de 7 à 10,9 cm. de longueur fianle	Du 8e au 16e jour	Du 8e au 17e jour
Racines de plus de 11 cm. ...	Au 8e jour	Du 12e au 17e jour

TABLEAU 45. — **Zea Mays Cinquantino.**

Comparaison du nombre de racines dont les courbes de croissance présentent différentes reprises après le premier plateau dans 100 cc. de solution dépourvue et pourvue d'extrait.

	Sans extrait.	Avec extrait.
Nombre total de racines... ...	56	53
Nombre de racines ne présentant pas de reprise ...	13	11
Nombre de racines n'ayant qu'une reprise	40	30
Nombre de racines ayant 2 reprises	2	11
Nombre de racines ayant 3 reprises	1	1

Très fréquemment les méristèmes terminaux des racines s'hypertrophient nettement lorsque les courbes atteignent le palier en question. Cette hypertrophie peut intéresser une longueur de 1 cm. Tout se passe comme si les méristèmes passaient par une « crise » de croissance (fig. 13 et 14).

Sur les 56 racines cultivées, 13 ne reprennent pas leur croissance après avoir atteint ce premier plateau; 43 manifestent une reprise, et parmi elles, 2 montrent 2 reprises et une seule, 3 reprises successives (voir tableau 45).

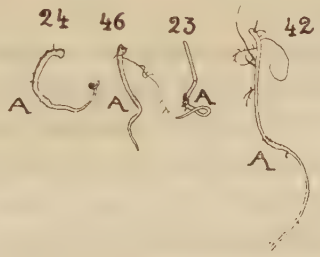


FIG. 13. — *Zea Mays Cinquantino.*
Racines manifestant une hypertrophie des tissus, correspondant à la « crise » de croissance du méristème, au cours de la culture. Le méristème des racines se trouvait en A lors de l'apparition de cette crise.

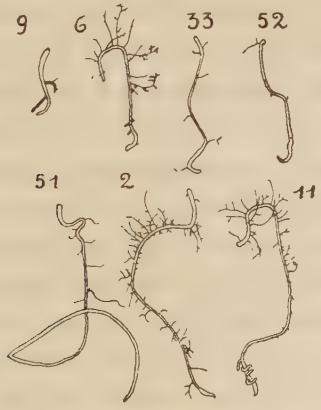


FIG. 14. — *Zea Mays Cinquantino.*
Racines dont la région terminale est hypertrophiée en fin de culture.

Adressons-nous maintenant aux courbes représentant la formation de radicelles.

Les ébauches de radicelles s'observent sur les racines isolées, au plus tôt quatre jours après la mise en culture, et toujours après que la racine a atteint 2 à 2,5 cm. (sauf les cas, bien entendu, où l'allongement a cessé définitivement avant d'atteindre cette longueur).

Les radicelles apparaissent à l'extrémité proximale des racines et en progression acropète. Parfois les radicelles formées, en fin de culture, sont nettement hypertrophiées.

La production de radicelles s'est manifestée plus ou moins tôt suivant que l'on envisage les racines de longueurs finales différentes : au plus tôt du 10e au 13e jour chez les racines de moins de 3 cm. de longueur finale; chez les racines de 3 à 7 cm. de longueur finale, du 4e au 13e jour; chez celles de 3 cm., du 4e au 8e jour, jamais plus tard.

Le nombre de radicelles n'augmente pas régulièrement en fonction du temps, mais bien par à-coups. Un plateau est vite atteint; ensuite le nombre de radicelles augmente encore dans de nombreux cas. Il peut y avoir plusieurs plateaux successifs.

Les courbes de croissance et de production de radicelles paraissent nettement être liées par corrélation.

Par l'examen de nombreuses courbes que nous avons étudiées, il semble que *croissance de la racine et production de radicelles sont sous la dépendance de phénomènes simultanés : une crise dans la croissance correspond presque toujours à une crise dans la production des* r_1. *Avec la reprise de la croissance se manifeste souvent une augmentation du nombre de* r_1.

C'est souvent lorsqu'il y a fléchissement dans les courbes de r_1 *qu'apparaissent les* r_2 (mais au plus tôt du 8e au 10e jour). *Et souvent les* r_3 *apparaissent lorsqu'il y a fléchissement dans les courbes de* r_2.

Les racines de *Zea Mays* dont les méristèmes proviennent de plantules de 3 jours ou de 6 jours présentent les mêmes caractéristiques au cours de la culture.

Cultures en présence d'extrait de levure. — Les courbes se présentent en général comme celles que l'on obtient en cultivant les racines en solutions minérales glucosées. La même diversité se retrouve ici. Nous ne jugeons donc pas nécessaire de revenir sur leur description (tableau 46).

Cependant, il existe quelques différences de détail. *Au cours des 5 premiers jours de culture, les vitesses de croissance sont moindres en présence d'extrait que sans extrait,* mais les valeurs de la croissance atteignent plus rapidement le premier palier chez les racines cultivées sans extrait que chez celles qui ont reçu de l'extrait (tableau 44).

En présence d'extrait de levure *les méristèmes des racines deviennent également hypertrophiés lorsque les courbes de croissance arrivent au premier palier* (revoir photo 9).

Sur 53 racines cultivées en présence d'extrait de levure, 42 reprennent leur croissance après avoir atteint le premier plateau. Parmi ces 42 racines, 26 présentent 2 plateaux; 12 montrent une seconde reprise de la croissance et 1 présente 3 plateaux et 3 reprises successives.

Par le tableau 45 on peut voir que le même nombre

TABLEAU 46. — **Zea Mays Cinquantino.**

Les vitesses des croissance, en centimètres par jour, des racines cultivées dans 100 cc. de solution minérale glucosée, en présence d'extrait de levure.

		De 0 à 2 jours.	De 2 à 5 jours.	De 5 à 8 jours.	De 8 à 12 jours.	De 12 à 14 jours.	De 14 à 17 jours.	De 17 à 20 jours.	De 20 à 24 jours.	De 24 à 27 jours.
		En cm.	En cm.	En cm.	En cm.	En cm.	En cm.	En cm.	En cm.	En cm.
Racines de moins de 2.9 cm. de longueur finale	Min.	0,05	0,13	0	0,05	0	0,33	0	0	0
	Max.	0,25	0,3	0,23	0,15	0,15	0,13	0,2	0,1	0,1
Rac. de 3 à 4,9 cm. de longueur finale.	Min.	0,05	0,2	0	0	0	0	0	0	0
	Max.	0,35	0,63	0,4	0,35	0,35	0,13	0,36	0,12	0,5
Rac. de 5 à 6,9 cm. de longueur finale.	Min.	0	0,2	0,33	0	0	0	0	0	0
	Max.	0,20	0,63	0,63	0,62	0,4	0,27	0,33	0,25	0,43
Rac. de 7 à 10,9 cm. de longueur finale.	Min.	0,05	0,26	0,23	0,1	0	0,06	0	0	0
	Max.	0,45	0,8	1,46	1,25	0,6	0,83	0,96	0,55	0,36
Racines de plus de 11 cm. de longueur finale...	Min.	0,05	0,23	0,6	0,95	0,35	0,13	0,06	0	0
	Max.	0,55	0,63	1,17	1,3	1,7	0,6	1,83	0,45	0,5

TABLEAU 47. — **Zea Mays Blanc des Landes.**

Comparaison des délais d'apparition du premier plateau des courbes de croissance chez les racines cultivées dans 100 cc. de solution dépourvue et pourvue d'extrait.

	Sans extrait.	Avec extrait.
Racines de 1,6 à 2,9 cm. de longueur finale	Du 5e au 12e jour	Du 8e au 12e jour
Racines de 3 à 5,9 cm.	Du 5e au 14e jour	Du 6e au 15e jour
Racines de 6 à 14,9 cm.	Du 9e au 19e jour	Du 8e au 23e jour
Racines de 15 cm. et plus ...	Du 12e au 23e jour	Du 13e au 23e jour

TABLEAU 48. — **Zea Mays Blanc des Landes.**

Comparaison du nombre de racines dont les courbes de croissance présentent différentes reprises après le premier plateau dans 100 cc. de solution dépourvue et pourvue d'extrait.

	Sans extrait.	Avec extrait.
Nombre total de racines ...	35	58
Nombre de racines ne présentant pas de reprise ..	11	5
Nombre de racines ne présentant qu'une reprise ...	20	42
Nombre de racines présentant 2 reprises...	4	8
Nombre de racines présentant 3 reprises...	—	3

de racines ne présentent qu'un seul palier dans les courbes de croissance, sans extrait comme en présence d'extrait de levure. De plus, dans l'un comme dans l'autre cas, une seule racine présente 3 reprises successives.

Comme c'est le cas pour les racines cultivées sans extrait de levure, on ne voit apparaître des radicelles que le 4e jour, au plus tôt. Cependant, ces radicelles peuvent n'être formées que du 6e au 20e jour.

L'augmentation du nombre des r[illegible] est soumise ici

aussi à une certaine périodicité en relation avec la périodicité de la croissance des racines. On observe les mêmes phénomènes de corrélation entre stabilisation du nombre des r_1 et apparition des r_2, entre stabilisation du nombre des r_1 et apparition des r_3.

b) **Zea Mays** var. **Blanc des Landes.**

L'allure générale des courbes de la croissance et du nombre de radicelles est comparable à celle qu'on a observée pour les racines de *Zea Mays Cinquantino*. La variabilité de ces courbes est fort importante.

La croissance se représente par des courbes en S, dont le premier plateau est apparu plus tôt chez les racines de faibles longueurs finales que chez celles de longueurs finales importantes. La présence d'extrait de levure retarde l'apparition de ce palier (tableau 47).

L'hypertrophie des méristèmes terminaux a été observée régulièrement lorsque les courbes atteignent le palier.

Ici encore se manifestent des reprises successives de la croissance chez plusieurs racines et l'on voit, au tableau 48, qu'en présence d'extrait de levure le nombre des racines présentant 2 et 3 reprises est beaucoup plus important (11 racines sur 58) qu'en milieux dépourvus d'extrait (4 racines sur 35).

Les vitesses de croissance varient très fortement d'une racine à l'autre (sans extrait de levure ou avec extrait), pendant les mêmes durées de culture (tableaux 49 et 50) et leurs valeurs changent pour des racines de différentes longueurs finales.

L'apparition des radicelles se fait au plus tôt du 5° au 6^{e} jour, que ce soit en milieux dépourvus ou

pourvus d'extraits de levure. Les r_1 ont été formées d'autant plus tôt que la longueur finale des racines est plus importante. Les courbes des nombres de radicelles affectent la même allure et participent des mêmes phénomènes de corrélation que celles qu'on a rencontrées pour *Zea Mays Cinquantino*.

c) **Triticum vulgare.**

Les méristèmes commencent à fonctionner dès le lendemain de la mise en culture et, comme ceux des

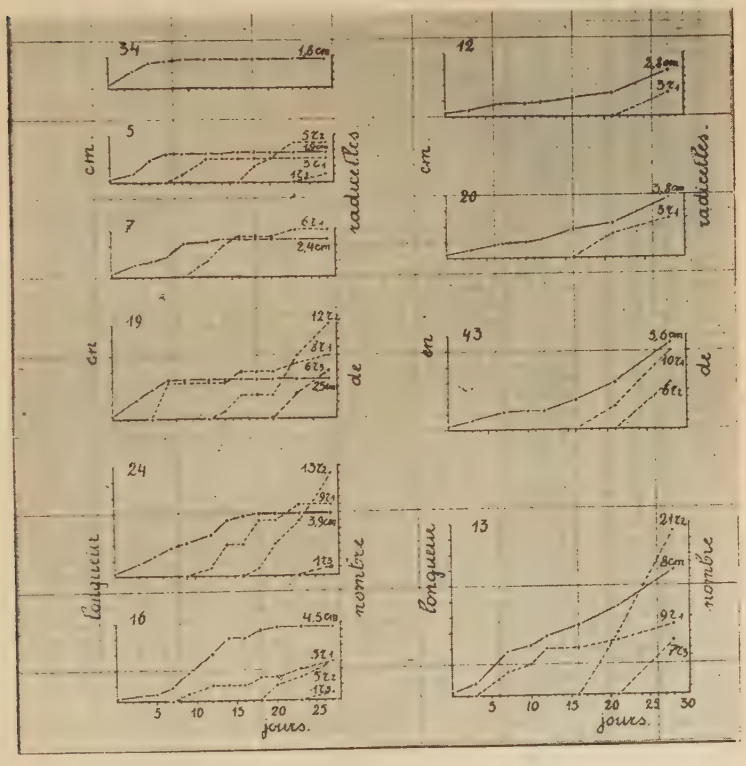


FIG. 15. — *Triticum vulgare.*

Comparaison du comportement des racines cultivées sans extrait (diagrammes de gauche) et avec extrait (diagrammes de droite). — Remarquer l'importante reprise de la croissance en fin de culture, en milieux pourvus d'extrait.

TABLEAU 49. — **Zea Mays Blanc des Landes.**

Les vitesses de croissance, en centimètres par jour, des racines cultivées dans 100 cc. de solution minérale glucosée, sans extrait de levure.

Longueurs finales des racines.		De 0 au 3e jour.	Du 3e au 5e jour.	Du 5e au 7e jour.	Du 7e au 9e jour.	Du 9e au 12e jour.	Du 12e au 14e jour.	Du 14e au 16e jour.	Du 16e au 19e jour.	Du 19e au 23e jour.	Du 23e au 27e jour.
		En cm.	En cm.	En cm.	En cm.	En cm.	En cm.	En cm.	En cm.	En cm.	En cm.
Moins de 2,9 cm.	Min.	0,03	0,05	0	0	0	0	0	0	0	0
	Max.	0,6	0,45	0,25	0,25	0,16	0,25	0,1	0,06	0,075	0,075
3 à 5,9 cm.	Min.	0,1	0,25	0,15	0	0	0	0	0	0	0
	Max.	0,53	0,75	0,55	0,4	0,3	0,3	0,3	0,23	0,1	0,25
6 à 14,9 cm.	Min.	0,01	0,3	0,2	0,1	0	0,1	0	0	0	0
	Max.	0,5	1,05	0,4	0,35	0,16	0,5	0,15	0,23	0,17	0,25
15 cm. et plus.	Min.	0,01	0,7	0,85	1,05	1,0	1,4	0	0,76	0,22	0
	Max.	0,13	0,8	1,3	1,5	1,6	1,75	0,25	3,00	1,55	1,75

TABLEAU 50. — **Zea Mays Blanc des Landes.**

Les vitesses de croissance, en centimètres par jour, des racines cultivées dans 100 cc. de solution pourvue d'extrait de levure.

		De 0 au 3e jour.	Du 3e au 6e jour.	Du 6e au 8e jour.	Du 8e au 10e jour.	Du 10e au 12e jour.	Du 12e au 15e jour	Du 15e au 18e jour.	Du 18e au 23e jour.	Du 23e au 27e jour.
		En cm.	En cm.	En cm.	En cm.	En cm.	En cm.	En cm.	En cm.	En cm.
Racines de moins de 2,9 cm. de longueur finale	Min.	0	0,13	0,05	0,05	0	0	0,06	0	0
	Max.	0,26	0,33	0,2	0,2	0,1	0,1	0,13	0,04	0,07
Rac. de 3 à 5,9 cm. de longueur finale.	Min.	0,03	0,2	0	0	0	0	0	0	0
	Max.	0,37	0,63	0,5	0,5	0,25	0,4	0,33	0,26	0,45
Rac. de 6 à 14,9 cm. de longueur finale.	Min.	0,03	0,17	0,3	0,1	0,8	0	0	0	0
	Max.	3,4	0,83	1,1	1,6	1,7	0,6	0,57	0,46	0,42
Racines de 15 cm. et plus de longueur finale	Min.	0,13	0,3	0,55	0,65	0,75	0,4	0,5	0	0
	Max.	0,7	0,93	1,5	1,95	1,0	1,83	1,93	1,44	1,52

racines de *Zea Mays*, présentent déjà des différences de comportement au cours des premiers jours.

Les courbes de croissance des racines cultivées sans extrait de levure présentent l'allure générale des courbes observées dans la culture des racines de *Zea Mays* : courbes sigmoïdes avec ou sans reprises successives, selon les cas (cf. tableau 51 et diagramme fig. 15).

En présence d'extrait les courbes sont aussi du type des courbes en S, mais beaucoup plus allongées que

TABLEAU 51. — **Triticum vulgare.**

Nombre de racines dont les courbes de croissance présentent différentes reprises, dans 100 cc. de solution dépourvue ou pourvue d'extrait.

	Sans extrait.	Avec extrait.
Nombre de racines ne présentant pas de reprise ...	21	3
Nombre de racines présentant une reprise	12	34
Nombre de racines présentant 2 reprises...	3	20
Nombre total de racines ...	36	57

TABLEAU 54. — **Triticum vulgare.**

Délais d'apparition des r_1 en solutions dépourvues ou pourvues d'extrait de levure.

	Sans extrait.	Avec extrait.
Racines de moins de 2 cm. de longueur finale	Du 12e au 16e jour	—
Racines de 2 à 2,9 cm.	Du 9e au 16e jour	Du 21e au 28e jour
Racines de 3 à 3,9 cm.	Du 9e au 14e jour	Du 10e au 28e jour
Racines de 4 à 4,9 cm.	Du 9e au 12e jour	Du 10e au 28e jour
Racines de 5 cm. et plus ...	—	Du ±5e au 21e jour

sans extrait, *les vitesses de croissance étant en général fort faibles au cours des 21 premiers jours de culture*. Elles présentent également un premier palier, suivi dans presque tous les cas d'une *très importante reprise de la croissance* (voir diagramme fig. 15), ce que ne manifestent jamais les racines de Maïs.

L'allure générale des courbes diffère dans les deux cas, en ceci, qu'en présence d'extrait de levure les vitesses de croissance les plus fortes s'observent en fin de culture et non au cours des 9 premiers jours, comme c'est le cas pour les racines privées d'extrait (tableaux 52 et 53).

De plus le tableau 51 montre que les nombres de racines dont les courbes de croissance présentent un ou plusieurs paliers varient suivant que les racines sont cultivées en milieux pourvus ou dépourvus d'extrait de levure.

Les courbes représentant l'apparition des radicelles se présentent comme celles que nous avons rencontrées pour les racines de *Zea Mays*. L'apparition des r_1 est fort retardée en présence d'extrait de levure, par rapport à la date d'apparition des r_1 en milieux dépourvus d'extrait (tableau 54).

DISCUSSION.

L'étude des courbes de croissance et de ramification nous montre que le comportement des racines isolées est très variable au cours de la culture. Cette irrégularité se retrouve et pour les racines des deux variétés de Maïs et pour celles de *Triticum*. De plus, on aura certainement remarqué dans ce qui précède que le comportement des racines de *Triticum* peut différer de celui des racines de Maïs, notamment en présence d'extrait de levure.

TABLEAU 52. — **Triticum vuagare.**

Les vitesses de croissance, en centimètres par jour, des racines cultivées dans 100 cc. de solution minérale glucosée dépourvue d'extrait.

		De 0 au 3e jour.	Du 3e au 5e jour.	Du 5e au 7e jour.	Du 7e au 9e jour.	Du 9e au 12e jour.	Du 12e au 14e jour.	Du 14e au 16e jour.	Du 16e au 18e jour.	Du 18e au 20e jour.	Du 20e au 23e jour.	Du 23e au 27e jour.
		En cm.	En cm.	En cm.	En cm.	En cm.	En cm.	En cm.	En cm.	En cm.	En cm.	En cm.
Racines de moins de 2 cm.	Min.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Max.	0,4	0,4	0,2	0,05	0,06	0	0	0	0	0	0
Racines de 2 à 2,9 cm.	Min.	0,1	0,1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Max.	0,4	0,5	0,4	0,4	0,06	0,1	0,05	0	0	0,03	0,025
Racines de 3 à 3,9 cm.	Min.	0,13	0,15	0,15	0	0	0	0	0	0	0	0
	Max.	0,53	0,65	0,4	0,65	0,13	0,5	0,15	0,25	0,05	0	0
Racines de 4 cm. et plus.	Min.	0,06	0,05	0,2	0,4	0,33	0,15	0,05	0	0	0	0
	Max.	0,33	0,3	0,25	0,4	0,4	0,45	0,25	0	0	0	0

TABLEAU 53. — **Triticum vulgare.**

Les vitesses de croissance, en centimètres par jour, des racines cultivées dans 100 cc. de solution minérale glucosée pourvue d'extrait.

		De 0 au 3e jour.	Du 3e au 7e jour.	Du 7e au 10e jour.	Du 10e au 12e jour.	Du 12e au 16e jour.	Du 16e au 21e jour.	Du 21e au 28e jour.
		En cm.	En cm.	En cm.	En cm.	En cm.	En cm.	En cm.
Racines de moins de 2 cm.	Min.	0,03	0,025	0,03	0,0	0,0	0,0	0,0
	Max.	0,23	0,15	0,06	0,1	0,0	0,0	0,0
Rac. de 2 à 2,9 cm.	Min.	0,03	0,025	0,0	0,0	0,0	0,02	0,04
	Max.	0,2	0,1	0,1	0,05	0,075	0,2	0,18
Rac. de 3 à 3,9 cm.	Min.	0,03	0,025	0,0	0,0	0,05	0,0	0,08
	Max.	0,26	0,2	0,1	0,25	0,22	0,16	0,28
Rac. de 4 à 4,9 cm.	Min.	0,03	0,025	0,0	0,0	0,025	0,02	0,28
	Max.	0,2	0,15	0,16	0,25	0,2	0,22	0,38
Racines de 5 cm. et plus	Min.	0,13	0,025	0,0	0,0	0,025	0,05	0,04
	Max.	0,43	0,5	0,56	0,35	0,3	0,3	0,52

Ce qui est intéressant à retenir, c'est que cette diversité de comportement se manifeste dès le **début de la culture,** que ce soit en milieux pourvus ou dépourvus d'extrait de levure.

Nous observons une action très nette de l'extrait de levure : il ralentit passagèrement la croissance des racines isolées pendant les premiers jours de la culture. Cette action inhibitrice serait peut-être due à la présence, dans l'extrait de levure, d'auxine en concentration suffisante pour inhiber la croissance; on pourrait supposer que cette auxine est détruite après quelques jours (ce qui permettrait alors aux racines de s'allonger plus rapidement).

L'allure générale des courbes de croissance nous indique nettement que dans les conditions de nos expériences qui n'ont jamais fait intervenir de repiquages successifs des méristèmes cultivés, la croissance des racines de *Zea Mays* est nettement limitée, que ce soit en milieux contenant ou non de l'extrait de levure. Cet arrêt de la croissance se manifeste aussi pour les racines de *Triticum*, uniquement en solutions minérales glucosées; mais lorsque de l'extrait est ajouté aux milieux, la croissance des racines de Blé devient la plus intense dans les derniers jours de la culture, si bien que toutes les courbes manifestent une reprise fort nette. Il aurait fallu prolonger la culture de ces racines pour voir si leur croissance se se serait poursuivie longtemps encore.

Nous avons déjà parlé dans notre aperçu historique de la question fort controversée de savoir à quelles causes attribuer la limitation de la croissance *in vitro* des racines de *Zea Mays*. D'aucuns (White P. R.,

Bonner et Addicot, etc.) prétendent que les substrats utilisés jusqu'aujourd'hui pour cultiver ces racines ne sont pas appropriés. Par contre, Gautheret et Fiedler attribuent cette limitation à une déficience des méristèmes radiculaires de Maïs en facteurs internes.

Nos résultats nous portent à accepter de préférence cette dernière hypothèse, car la diversité des courbes, dans les mêmes conditions de culture et de milieu, ne semble pouvoir s'expliquer que par des différences individuelles parmi les racines, en ce qui concerne les facteurs internes.

Un fait vraiment digne d'attention et dont White P. R. (1932b) a été le seul à parler, fort brièvement d'ailleurs, est l'allure périodique des courbes de croissance. Dans nos conditions de culture, en présence ou non d'extrait de levure, l'allongement des racines isolées de Maïs et de Blé s'opère très nettement par à-coups; les courbes de croissance manifestent des paliers successifs. Certaines racines ont une reprise, puis un second palier définitif; d'autres deux reprises et trois paliers; d'autres enfin trois reprises successives.

Une caractéristique très importante et observée généralement, en présence ou non d'extrait de levure, est l'hypertrophie de la région terminale des racines dont l'apparition coïncide sans conteste avec le premier arrêt de la croissance (premier palier des courbes). Tout se passe comme si les méristèmes étaient soumis à une « crise » de croissance.

Nous avions déjà signalé qu'en fin de culture le diamètre des extrémités des racines et des radicelles

est souvent plus important que celui des autres régions (1).

Selon White, l'examen microscopique des racines de *Triticum* révèle l'alternance dans le corps de la racine de zones de cellules fortement allongées avec des zones de cellules à aspect méristématique (cellules polyédriques); ces zones différentes correspondraient à la succession des périodes de croissance rapide et de croissance réduite ou nulle. White P. R. a signalé aussi un « arrêt hyperhydrique » de la croissance.

La rythmicité des courbes de croissance se termine, pour les racines de *Zea*, par un arrêt définitif. Il serait intéressant de rechercher si les mêmes phénomènes rythmiques s'observent dans la culture des racines de Tomate et autres Dicotylées qu'on a pu faire croître de façon illimitée. Nous ferons remarquer que l'on n'a jamais pu réussir la culture illimitée des racines de Maïs et de Blé. Par ailleurs on sait que dans les conditions normales de l'existence les racines principales des plantules de ces deux espèces ont une durée éphémère; elles cessent rapidement de s'allonger et se dessèchent. Ce sont des racines nées aux premiers nœuds de la plantule qui prennent désormais leur place. Les racines principales des plantules de Maïs et de Blé sont donc nettement limitées dans leur développement sur la plante mère. N'est-ce pas là peut-être qu'il faudrait chercher une des causes de l'échec des essais de culture illimitée des racines?

Nous savons également que dans ses cultures clo-

(1) On observe parfois aussi, mais plus rarement, le phénomène inverse, où les racines diminuent progressivement de diamètre et se terminent par une portion méristématique amenuisée (racines de Maïs Blanc, photo 2; racines de *Triticum*, fig. 5).

niques de Tomate, White P. R. se sert, comme inoculums, de fragments de racines portant des radicelles. Il ne repique pas successivement le même méristème terminal.

Selon Robbins et White V. B., le procédé de repiquages à partir de fragments de racines amène un processus sélectif par lequel on écarte systématiquement tous les méristèmes qui ne manifestent pas le pouvoir de se développer indéfiniment. Or ces méristèmes sont très nombreux, même dans les cultures cloniques de Tomate, qu'ils proviennent soit de la partie proximale, soit de la partie distale, soit encore de la portion moyenne de la racine mère. De plus, c'est par suite de l'incapacité de développement des radicelles de *Pisum* que Bonner et Addicot n'ont pu en réaliser de cultures cloniques. (Notons cependant que ces auteurs ont obtenu la croissance pratiquement illimitée du méristème terminal des racines de *Pisum*.)

Il est donc important de retenir que même parmi les méristèmes de racines dont on a pu réaliser le développement illimité, *il en est qui sont incapables de manifester cette propriété. Le problème, selon nous, fait indiscutablement intervenir la présence ou l'absence de facteurs internes de croissance et de ramification.*

CONCLUSIONS DE LA PREMIERE PARTIE.

Notre étude de la croissance et de la ramification des racines par la technique de la culture des méristèmes *in vitro* s'est révélée particulièrement délicate et difficile en raison de l'extrême irrégularité des résultats de culture, non seulement d'une expérience

à l'autre, mais encore au sein d'une même expérience; dans les mêmes conditions de milieu, les racines isolées manifestent des écarts individuels énormes, tant au point de vue de leur longueur finale qu'à celui du nombre et de la longueur de leurs radicelles (fig. 16).

Malgré cette diversité inévitable, nous pouvons, cependant, tirer de nos résultats des conclusions générales importantes. Mais, pour ce faire, il ne s'agira évidemment plus de conclure sur des moyennes, puisque le matériel est très variable au départ; il ne s'agira plus de se baser sur des index de croissance totalisant la longueur des racines et celle des radicelles. Nous devrons étudier séparément chacun des éléments du comportement général (croissance de la racine, ramification, etc.) et grouper les sujets cultivés en catégories de caractères généraux suffisamment voisins (voir chapitre I).

Nous remarquons tout d'abord que, quelles que soient les conditions de culture, les racines isolées de diverses espèces et variétés végétales manifestent un comportement qui leur est propre, tant au point de vue de la croissance que de la ramification (chapitres II et III). Ainsi les racines cultivées de Maïs peuvent s'allonger beaucoup plus que celles de Blé placées dans les mêmes conditions; elles se ramifient plus abondamment que ces dernières et suivant un mode tout différent. Nous sommes ici en présence d'un facteur variétal bien caractéristique.

L'âge chronologique qu'ont les plantules mères au moment de l'amputation des méristèmes est un autre facteur, d'une importance capitale, qui détermine la valeur du rendement des cultures (chapitre II). Les méristèmes des plantules de 6 jours et de 20 jours donnent des rendements nettement inférieurs à ceux

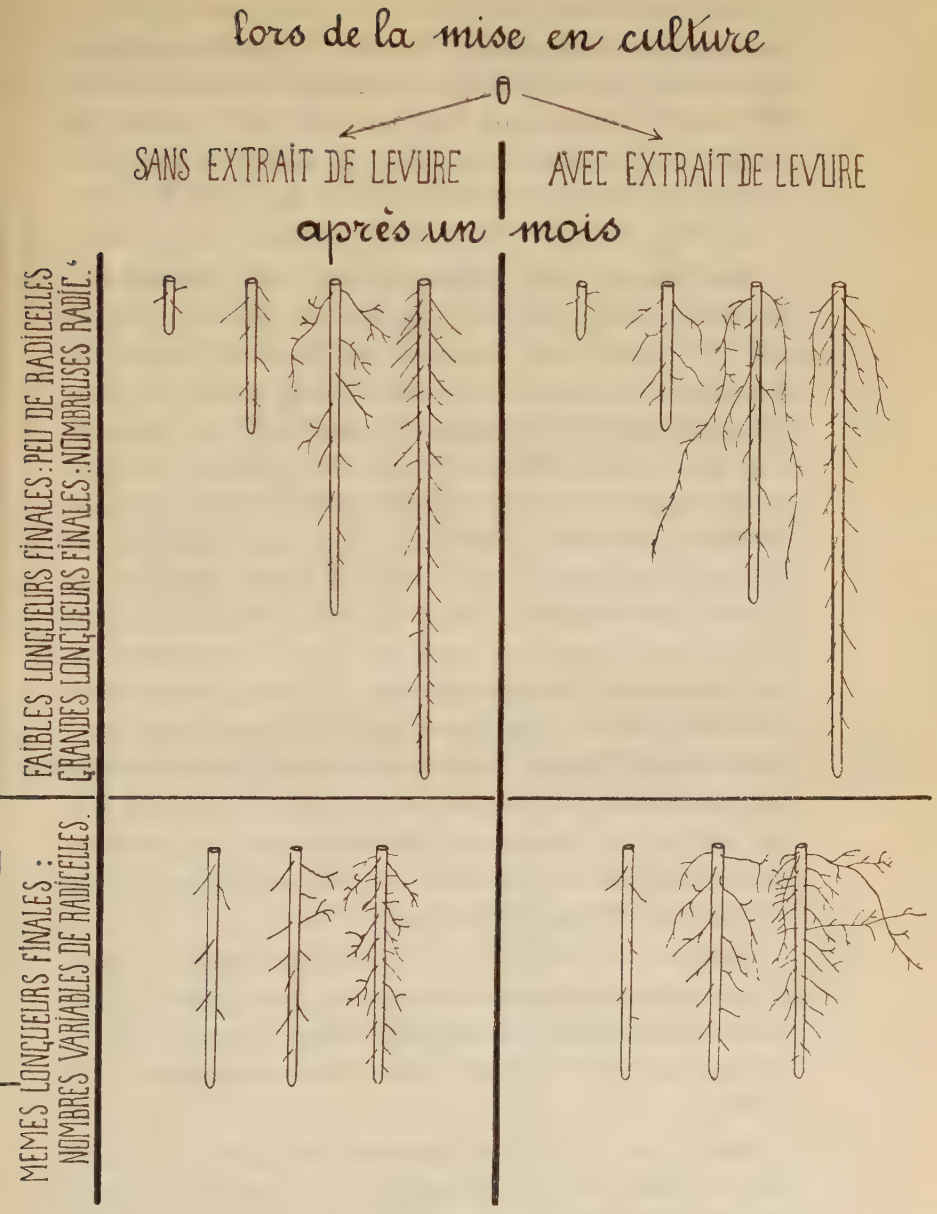


FIG. 16. — *Variabilité des résultats individuels de la culture des racines isolées.*

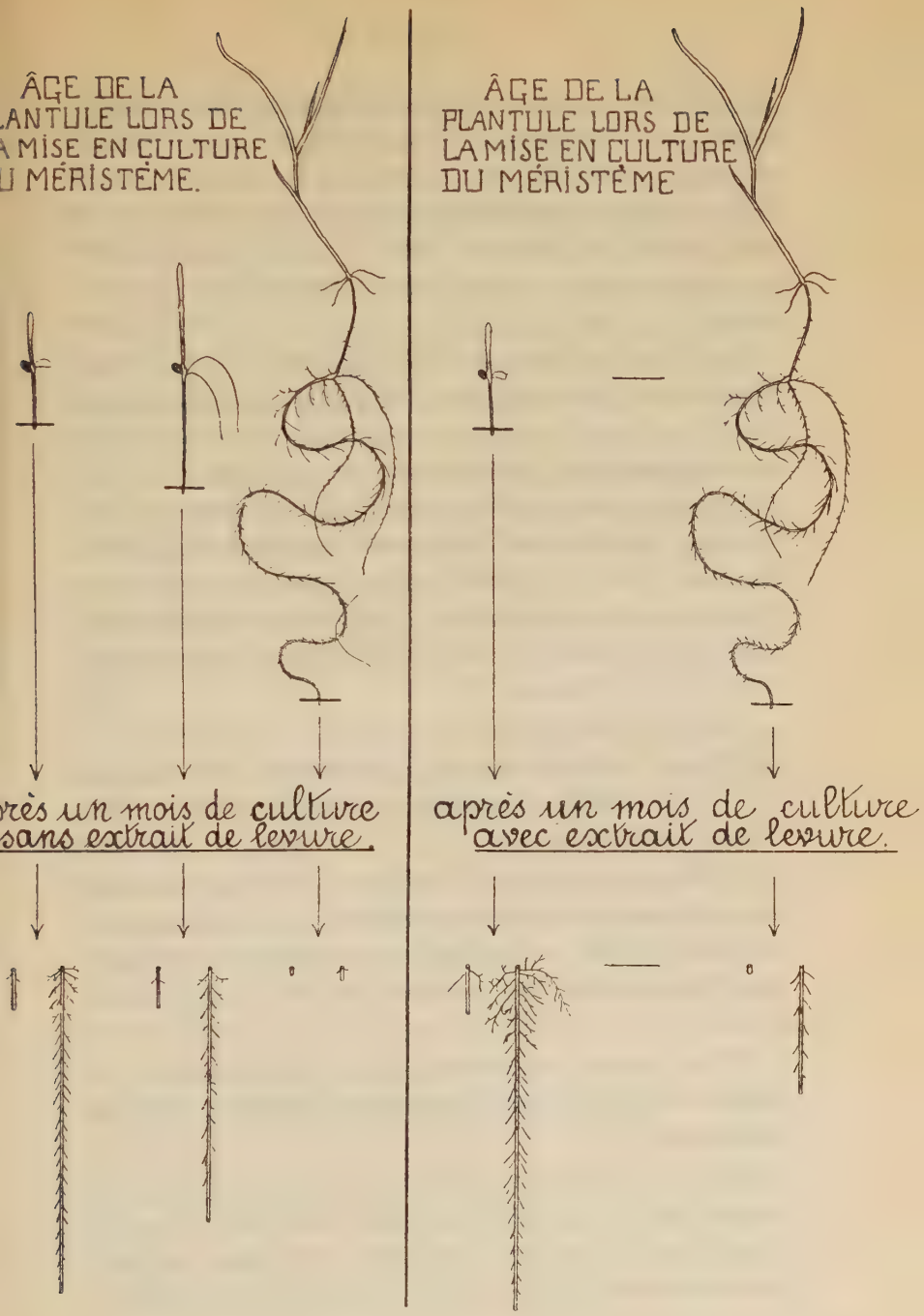
que soit l'espèce ou la variété cultivée, quelle que soit la sélection du « matériel » de culture tèmes prélevés sur des plantules de même âge physiologique, de même vigueur, etc.), que ce t en milieu pauvre ou en milieu complet, on observe inévitablement des écarts individuels considérables.

des plantules de 3 jours (fig. 17). Les rendements de culture décroissent *progressivement* à mesure qu'augmente l'âge chronologique des plantules mères (3, 6, 20 jours); finalement ils peuvent être considérés comme nuls (cultures en solution minérale glucosée, de pointes radiculaires de plantules âgées de 20 jours et résultant du développement d'embryons isolés).

Bien mieux, l'âge physiologique et la vigueur des plantules mères peuvent influencer les résultats de culture. Ainsi, pour des plantules de même âge chronologique, les méristèmes des racines mères les plus longues (âge physiologique plus avancé) se comportent mieux en culture que ceux des racines les plus courtes (âge physiologique peu avancé), du moins en solution minérale glucosée dépourvue d'extrait de levure. Par ailleurs, pour des plantules de 3 et de 6 jours, mais ayant le même âge physiologique, c'est-à-dire étant au même stade de leur développement, les méristèmes des plantules de 3 jours donnent des rendements bien meilleurs que les méristèmes des plantules de 6 jours. Les plantules de 3 jours d'un tel âge physiologique ont plus de vigueur que celles qui ont atteint ce même âge physiologique au sixième jour seulement; on en retrouve la traduction dans le comportement des méristèmes isolés.

Toutefois la différence de rendement entre racines d'âges physiologiques différents ou de vigueurs différentes est beaucoup moins importante que celle qu'on obtient entre les racines d'âges chronologiques différents.

Ainsi donc, le développement in vitro *des méristèmes isolés est étroitement lié aux caractères individuels de la plantule dont il provient. Chaque méristème est caractérisé par des potentialités de crois-*



IG. 17. — *Age des plantules dont est cultivé le méristème radiculaire et rendement des cultures.* *(Zea Mays Cinquantino.)*

meilleurs rendements de culture sont donnés, en milieu pauvre comme en milieu complet, par les ristèmes provenant des plantules les moins âgées. Il semble que le méristème radiculaire terminal ne plantule âgée, développée à l'obscurité, est « épuisé ». On remarquera que l'amplitude des rts individuels des résultats de culture diminue à mesure que les méristèmes proviennent de plantules plus âgées.

sance et de ramification bien définies. Ces potentialités sont différentes suivant l'espèce et la variété végétales. De plus, elles sont plus ou moins élevées suivant l'âge chronologique, l'âge physiologique et la vigueur des plantules mères. Elles s'épuisent progressivement avec l'âge chronologique de ces plantules.

Mais des méristèmes de plantules de la même variété, du même âge chronologique et du même âge physiologique, c'est-à-dire des méristèmes prélevés sur des plantules sélectionnées de la manière la plus scrupuleuse, donnent malgré tout, en culture, des résultats parfois fort divergents (chapitres II et III). Dès leur mise en culture, il se manifeste, dans les développements individuels, des écarts considérables qui, avec le temps, s'affirmeront plus catégoriquement encore (chapitre IV).

C'est ici que se pose dans toute sa complexité, le problème de l'hétérogénéité inéluctable des résultats de culture. Quelles peuvent en être les causes? Elles peuvent être :

1° De nature externe (variations des conditions de température, variations qualitatives ou quantitatives de l'éclairement, composition inadéquate ou insuffisante du substrat de culture, aération des racines, etc.).

2° De nature interne (influence de lésions éventuelles de l'inoculum, influences variétales, facteurs cellulaires).

En ce qui concerne notre recherche, la cause de l'hétérogénéité ne peut pas être recherchée dans les conditions de culture. En effet, nous nous sommes astreint et nous avons réussi à réaliser des conditions

de milieu absolument constantes et uniformes. Malgré ces conditions rigoureusement les mêmes, nous observons une aussi grande variabilité que les auteurs qui n'ont pas toujours travaillé avec la même précision.

Si l'on rend le milieu complet en ajoutant de l'extrait de levure à la solution minérale glucosée, l'hétérogénéité se manifeste de façon plus décisive encore que lorsque les méristèmes sont cultivés en milieu déficient.

Il en résulte que les éléments qui provoquent l'irrégularité des résultats doivent être recherchés en dehors du milieu, à notre avis dans des propriétés individuelles des méristèmes.

Il semble démontré que les traumatismes survenus lors de l'amputation des méristèmes n'interviennent pas.

La question de la sélection du matériel cultivé ne doit pas être en cause : si nous partons de méristèmes de plantules de lignée pure ayant le même âge, nous observons encore la même variabilité individuelle. On peut donc pousser aussi loin que l'on veut la stabilisation du matériel, les potentialités des méristèmes n'en laissent pas moins d'être très différentes.

Ces faits signifient qu'indiscutablement nous nous trouvons en présence de phénomènes d'ordre interne; la variabilité initiale des méristèmes mis en culture est désormais un fait acquis. Ce petit fragment de plantule, ce méristème radiculaire isolé emporte avec lui, lors de sa mise en culture, la capacité métabolique, les propriétés caractéristiques des tissus de la plantule mère, au moment de l'amputation.

Les potentialités de croissance et de ramification,

variables d'un méristème à l'autre, sont responsables de l'hétérogénéité considérable des résultats de culture.

Nous avons vu que l'extrait de levure incorporé aux milieux ne rend pas les résultats plus homogènes (chapitre III). On ne peut nier, cependant, que l'extrait de levure exerce une influence heureuse sur les racines isolées (voir fig. 16 et 17).

Dans les tout premiers jours de culture, la croissance est notablement ralentie en présence d'extrait de levure. Mais cette inhibition (de durée plus ou moins longue, suivant qu'il s'agit de racines de *Zea Mays* ou de *Triticum*) n'est que passagère.

En général, dans les milieux pourvus d'extrait de levure, on observe, en fin de culture, plus de racines longues et bien ramifiées que lorsque les milieux ne contiennent pas cet extrait. Mais il ne faut pas oublier que, quelle que soit l'excellence du milieu de culture, il subsiste toujours des racines courtes et non ramifiées, des racines « déficientes ».

Remarquons encore que la présence d'extrait de levure exerce une action différente sur les racines cultivées suivant l'âge de la plantule (fig. 17), mais aussi suivant l'espèce à laquelle elles appartiennent. Elle n'améliore pas la croissance des racines de Maïs, mais provoque chez elles une surproduction de radicelles et un allongement considérable de ces radicelles. D'autre part, elle favorise nettement la croissance des racines de Blé, sans produire le moindre effet sur leurs radicelles.

Quant à l'allongement des radicelles de Maïs, observé dans les milieux complets, nous avons vu que, sur une même racine, *certaines* radicelles seulement

peuvent s'allonger considérablement (1). Bien mieux, on trouvera toujours parmi les racines cultivées en milieu complet un nombre assez important de racines dont *aucune* radicelle ne mesure plus de deux ou trois centimètres.

Nous pouvons conclure de ce qui précède que *l'action stimulatrice du développement des racines et des radicelles par l'extrait de levure est obligatoirement liée à la présence indispensable dans les méristèmes de facteurs internes. L'absence de ces facteurs cellulaires limitants rend inefficace l'addition d'extrait de levure dans les milieux de culture.*

Dès l'isolement des pointes radiculaires, ces facteurs sont définitifs chez les racines de Maïs. En effet, en milieu déficient comme en milieu complet, ces racines isolées sont incapables d'augmenter ou de reconstituer ces potentialités. Ces racines, quoi qu'on fasse, sont limitées dans leur développement.

Le développement des racines de Blé est limité en milieu minéral glucosé. Nous n'avons pas de données suffisantes pour affirmer que leur développement peut être illimité en milieu complet.

Selon nous, la possibilité de développement illimité des racines isolées de Dicotylées trouverait sa cause dans le fait qu'à l'inverse de celles de Monocotylées, ces racines posséderaient le pouvoir de reconstituer dans leur méristème, à mesure de la réalisation du développement, ces facteurs de croissance et de ramification. Mais seules des recherches ultérieures pourront trancher la question.

---

(1) L'allongement des radicelles, en présence d'extrait de levure, nous rappelle l'allongement des racines de néoformation produit sur des hypocotyles inanitiés par la vitamine B_1 (R. et M. Bouillenne) ou le carotène (O. Lazar). Semblable résultat a été obtenu par Fiedler par barbotage d'air dans les milieux de culture des racines isolées.

Il est actuellement démontré que l'action de l'extrait de levure sur les racines doit être attribuée, du moins en partie, à sa teneur en aneurine ou vitamine B_1 (Bonner et Addicot, Robbins W. J. et Bartley Schmidt, White P. R.). D'autre part, la présence d'extrait constitue un apport nutritif non négligeable.

Tout récemment, Addicot (1939), vient d'affirmer que la vitamine B_1 est, pour les racines, une hormone de croissance. Selon cet auteur, c'est sur la région méristématique exclusivement qu'elle agirait : elle provoque une grande activité mitosique des cellules méristématiques, intensifie leur métabolisme. Elle n'a pas d'action sur l'élongation des cellules de la zone d'allongement.

Nous avons signalé, dans notre recherche, plusieurs faits relevant précisément de l'activité propre des cellules méristématiques : périodicité de la croissance des racines, apparition de « crises de croissance », hypertrophie des régions terminales ou encore amenuisement final des pointes méristématiques. Ces phénomènes pourraient fort bien être dus à une carence finale des racines isolées en vitamine B_1 dans le cas de la culture en l'absence d'extrait de levure.

Mais tout porte à croire qu'à côté de la vitamine B_1, *d'autres facteurs internes jouent un rôle capital dans la croissance des racines.* Comment comprendre, sinon, le médiocre développement de nombreuses racines en milieu complet, riche en vitamine B_1? *La présence variable de l'un ou l'autre de ces facteurs limitants est responsable de l'hétérogénéité des résultats, hétérogénéité qui se retrouve toujours, même dans les conditions optimales de culture.*

DEUXIÈME PARTIE

Étude de la rhizogenèse sur les racines cultivées *in vitro.*

Nous avons vu dans la première partie de notre travail que le développement in *vitro* des racines isolées est caractérisé par une considérable hétérogénéité d'ensemble quelles que soient les conditions de culture. Après avoir fait l'étude détaillée du développement de ces racines, nous avons proposé l'hypothèse de la présence, en plus ou moins grande abondance, dans les méristèmes lors de leur isolement, de facteurs régissant l'intensité de la croissance, d'une part, et celle de la néoformation des radicelles, d'autre part.

Maintenant seulement, nous allons pouvoir entreprendre l'étude que nous nous étions proposée en commençant notre recherche : celle de la rhizogenèse.

Dans cette deuxième partie, nous ne nous occuperons plus que de la néoformation des radicelles sur les racines isolées. Il est nécessaire, dès à présent, pour ne plus laisser subsister aucun doute, de mettre clairement en évidence la présence des facteurs rhizo-

géniques dont nous avons été amené à postuler l'existence.

Une objection nous a été faite. Pourquoi entreprendre cette recherche sur un matériel qui, de toute évidence, ne peut que nous donner des résultats fort complexes? Pourquoi n'avoir pas recherché un matériel plus homogène?

C'est que les racines isolées, malgré leur comportement si variable constituent, pour l'étude de la rhizogenèse, le matériel le plus simple qui soit. Nous l'avons déjà signalé dans notre introduction.

De plus, il n'y a aucun avantage à travailler sur des racines d'autres espèces, car l'hétérogénéité des résultats est le fait de toutes les cultures de racines réalisées jusqu'à présent.

Enfin, cette hétérogénéité grâce à laquelle nous avons pu mettre en évidence la variabilité initiale des méristèmes, leur dépendance absolue du métabolisme de la plantule-mère et l'importance des facteurs internes nous permettra d'obtenir des précisions importantes concernant la rhizogenèse.

Nous nous proposons de répondre à deux questions :

1° Existe-t-il réellement dans les racines des facteurs spécifiquement responsables de la néoformation des méristèmes radiculaires?

2° Ces facteurs existent-ils dans les racines en quantité illimitée? Peut-on les épuiser?

Pour élucider ce problème nous avons utilisé une des propriétés bien caractéristiques de l'hétéroauxine.

On sait que l'hétéroauxine, acide indol . β . acétique provoque un allongement considérable des tiges et des feuilles mais exerce, en général, sur les racines

une action tout à fait opposée. Les travaux de Fiedler H., de Geiger H. et Burlet, de Segelitz nous apprennent qu'à la dose de 1/2 à 2 mgr. par litre, elle inhibe l'allongement des racines isolées et provoque simultanément une abondante prolifération de radicelles. A doses très faibles, cependant, l'hétéroauxine favorise l'allongement des racines, mais n'a plus d'action rhizogenique.

Comment vont réagir, en présence d'hétéroauxine, nos racines isolées, de comportement si variable? Formeront-elles plus de radicelles que lorsque l'hétéroauxine n'est pas incorporée aux milieux? Manifesteront-elles des réactions différentes d'une racine à l'autre?

Les racines qui ont servi à cette recherche ont été cultivées suivant la technique utilisée précédemment. Nous ferons usage de solution minérale glucosée dépourvue d'extrait de levure mais contenant 1,5 ou 1,7 mgr. d'hétéroauxine par litre. Cette concentration a été adoptée parce que c'est à cette dose que la prolifération des radicelles sur les racines est la plus considérable. De plus, elle n'est pas toxique, étant donné que la concentration d'hétéroauxine maximale non toxique est de l'ordre de 500 mgr. par litre.

A. — LES POTENTIALITES RHIZOGENIQUES DES RACINES ISOLEES.

Nous cultiverons tout d'abord des méristèmes comme nous l'avons fait dans la première partie. Ensuite nous soumettrons à l'action de l'hétéroauxine des racines de plusieurs centimètres de longueur.

I. — Cultures de méristèmes.

1. MÉRISTÈMES SOUMIS DÈS LEUR ISOLEMENT A L'ACTION DE L'HÉTÉROAUXINE.

a) **Zea Mays Cinquantino.**

Les méristèmes cultivés étaient tous prélevés sur des racines de 2 cm. de longueur, appartenant à des plantules comparables (au 3e jour de germination).

Il a été mis en culture 49 pointes méristématiques de 2 mm. au plus. La durée de la culture a été de 33 jours à la lumière artificielle continue et 26,5° C. Les milieux contenaient 1,7 mgr. d'hétéroauxine par litre. Chaque méristème a été cultivé dans 100 cc. de solution.

Si l'on note tous les 2 jours environ la valeur de la croissance des méristèmes isolés on remarque que cette croissance est excessivement faible; elle varie cependant d'un individu à l'autre.

Cette valeur peut se manifester dès le début de la culture. Au cours des trois premiers jours la longueur des pointes radiculaires peut doubler, voire tripler : Après 5 jours elle peut être triplée, quadruplée, rarement quintuplée. Mais elle peut être également beaucoup plus faible.

C'est pendant les 5 premiers jours que sont observées les plus fortes intensités de croissance journalière.

Chez certaines racines (14,3 % de l'ensemble) la croissance est bloquée définitivement après 5 à 11 jours de culture, environ. Les autres pointes radiculaires, après avoir cessé de croître pendant un certain temps manifestent une reprise de la croissance, parfois encore après de nombreux arrêts, une seconde, voire une troisième reprise (voir tableau 55).

Après 33 jours de culture, les pointes radiculaires

ont atteint différentes longueurs. Ainsi sur 49 pointes cultivées : 42 mesurent moins de 1,1 cm. de longueur finale, 5 mesurent de 1,1 à 1,5 cm. de longueur finale, 2 mesurent respectivement 1,7 et 1,8 cm. de longueur finale.

Zea Mays Cinquantino.

Méristèmes cultivés dans 100 cc. de solution minérale glucosée, en présence d'hétéroauxine (1,7 mgr. par litre).

FIG. 18. — Racines peu ramifiées en fin de culture.

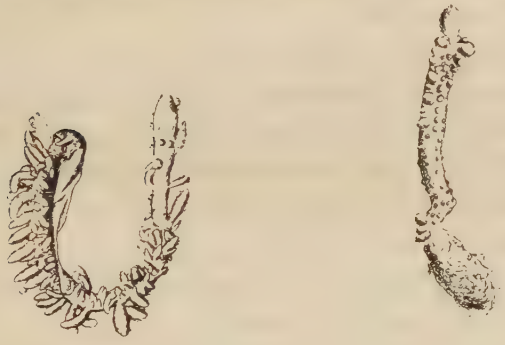


FIG. 19. FIG. 20.

Racines abondamment ramifiées en fin de culture.

La racine la moins longue mesure 0,5 cm.; la plus longue 1,8 cm. Rappelons que les longueurs finales minimum et maximum des racines cultivées en solutions minérales glucoseés, sans hétéroauxine, étaient respectivement 1,8 et 19,3 cm. Cela fait, en ce qui concerne les valeurs de croissance minima, une inhi-

bition de 27,7 % sous l'influence de l'hétéroauxine; cette inhibition est de 90,6 % pour les valeurs maxima.

Lors de la mise en culture, les méristèmes se trouvent les uns en surface, les autres en profondeur des milieux. Sur 49, 21 se sont maintenus en profondeur dès le début; 26 à partir du 3e jour, 2 enfin à partir du 9e jour. Après 33 jours de culture toutes les racines isolées sont en profondeur des milieux.

Voyons quel est le comportement des méristèmes au cours de la culture.

Au 3e jour : il y a croissance dans tous les cas. La pointe radiculaire s'est allongée; on a des longueurs de 0,3, 0,4 0,6, voire (exceptionnellement) 0,9 cm. Dans la majorité des cas on observe nettement un élargissement du diamètre dans les environs de la section. Cet élargissement s'atténue à mesure qu'on s'approche du méristème, qui semble garder ses dimensions initiales.

Au 5e jour : on observe déjà des racines qui ne s'allongent plus (3 sur 49). Chez d'autres, la croissance continue. On relève les longueurs : 0,3, 0,5. 0,6, 0,9, 1, 1,2 cm. Sur toutes les racines l'élargissement diamétral est observé généralement; il progresse vers le méristème.

Souvent apparaît un décollement épidermique, débutant à la surface de section.

Certaines pointes radiculaires sont courbées. Dans ce cas le décollement se manifeste du côté de la convexité.

Au 7e jour : on relève les longueurs : 0,4, 0,6, 0,7, 1, 1,5 cm. La croissance est suspendue chez 17 racines sur 49.

La croissance a continué pour 32 racines, mais beaucoup plus faiblement que précédemment. Les

racines deviennent presque toutes translucides; on en voit le cylindre central. L'épaisseur de ce dernier diminue progressivement à mesure qu'on s'approche du méristème. Dans un cas il semble apparaître des ébauches de radicelles.

Au 9e jour : on voit nettement les ébauches de radicelles chez quelques racines. La croissance a été nulle chez 18 racines sur 49.

Longueurs observées : 0,4, 0,45, 0,6, 1,6 cm.

Au 11e jour : sur 23 racines il y a des ébauches de radicelles. La croissance de 33 racines sur 49 a été nulle.

Au 15e jour : sur 36 racines il y a ébauches certaines de radicelles. La croissance chez 44 racines a été nulle. 13 racines ne montrent pas d'ébauches de radicelles.

Au 33e jour : pendant les 14 derniers jours, 31 racines n'ont plus manifesté de croissance. Le nombre des radicelles et des ébauches de radicelles a été observé au binoculaire, parfois après dissection des pointes radiculaires.

5	racines montrent	. . . 0
3	» »	de 1 à 5 ^
1	racine montre	de 6 à 10 ^
6	racines montrent	de 11 à 20 ^
6	» »	de 21 à 30 ^
7	» »	de 31 à 40 ^
6	» »	de 41 à 50 ^
5	» »	de 51 à 60 ^
3	» »	de 61 à 70 ^
4	» »	de 71 à 80 ^
2	» »	de 81 à 90 ^
1	racine montre	plus de 90 ^

Le maximum observé est de 119. On trouvera aux figures 18, 19 et 20 quelques exemples de racines en fin de culture.

Dans tous les cas, les radicelles sont courtes : 2 mm. au plus. Les racines isolées sont souvent courbées.

Les radicelles peuvent être localisées tout le long des racines isolées ou à l'une ou l'autre extrémité de

TABLEAU 55. — **Zea Mays Cinquantino.**
(Cultures de méristèmes en présence d'hétéroauxine.)

Nombre de racines, ramené à 100, ayant manifesté différentes reprises de la croissance.

Pointes radiculaires sans reprise de croissance après le premier palier.	14,3
Avec 1 reprise...	59,2
Avec 2 reprises.	22,4
Avec 3 reprises.	4,7
Total...	100,0

celles-ci. Parfois la surface de section de la racine est entourée de radicelles.

Dans certains cas les radicelles sont visiblement alignées en face des pôles de xylème.

On voit par cette expérience que *si l'hétéroauxine provoque la néoformation de nombreuses radicelles sur beaucoup de racines, il en est cependant qui ne peuvent en produire que quelques-unes.*

Il n'est pas sans intérêt de comparer le nombre maximum de radicelles observé ici (119) avec le nombre maximum de r_1 formées dans la culture de méristèmes en solutions minérales glucosées (*Maïs Cinquantino*, méristèmes provenant de plantules de 3 jours, voir chapitre II) et qui est de 94 r_1. Le maximum est donc un peu plus élevé en présence d'hétéro-

auxine. De plus, sans hétéroauxine, 12 racines sur 56 portent plus de 30 r_1 alors qu'en présence d'hétéroauxine on en trouve 28 sur 49.

b) **Triticum vulgare.**

Il a été mis en culture 29 méristèmes mesurant au départ 2 mm. au plus. Ils proviennent de plantules âgées de 3 jours. La durée de la culture a été de 34 jours à la lumière artificielle continue et à 26,5° C. Chaque méristème était cultivé dans 100 cc. de solution minérale glucosée, additionnée d'hétéroauxine (1,7 gr. par litre).

Dans ces conditions la croissance des méristèmes isolés est extrêmement faible. Elle peut cependant se manifester dès les premiers jours de la culture. Elle varie d'un individu à l'autre.

Au cours de la culture on observe :

Le 4e jour : sur les 29 racines une seule n'a pas manifesté la moindre croissance. Les longueurs observées sont 0,3, 0,5, 0,25 cm.

La plupart des racines sont courbées en arc de cercle; on observe une désorganisation des tissus corticaux, surtout importante vers la convexité.

Le méristème lui-même a conservé son diamètre et son aspect initiaux.

Le 7e jour : sur 29 racines, 15 n'ont pas manifesté de croissance depuis le 4e jour. Les autres racines manifestent les longueurs suivantes : 0,25, 0,3, 0,4 et 0,5 cm.

Le 10e jour : depuis le 7e jour, 22 racines sur 29 ne se sont plus allongées.

Les longueurs observées vont de 0,25 à 0,7 cm.

Le 34e jour : les racines ont les mêmes longueurs qu'au dixième jour. La racine de plus faible longueur mesure 0,25 cm.; la plus longue 0,7 cm.

Les racines se classent comme suit, d'après leur longueur finale :

1	racine	mesure 0,25 cm.;
5	racines	mesurent 0,3 cm.;
10	»	» 0,4 cm.;
11	»	» de 0,5 à 0,6 cm.;
2	»	» 0,7 cm.

L'observation macroscopique de pointes radiculaires de dimensions si réduites est fort peu aisée et pourrait amener des erreurs. C'est pourquoi nous n'avons pas pu donner la date d'apparition des ébauches de radicelles; il semble bien qu'au dixième jour on n'en observait aucune trace.

Mais au 34e jour, sur 29 pointes radiculaires :

5	pointes	portent . .	0
4	»	» de 1 à 5	^
9	»	» de 6 à 10	^
9	»	» de 11 à 15	^
2	»	» de 16 à 20	^

Rappelons que dans la culture des racines de *Triticum* en milieux minéraux glucosés, il a été observé au plus 9 r_1. Ce maximum est plus que doublé en présence d'hétéroauxine (20 r_1) et 11 racines sur 29 portent plus de 10 r_1.

Les figures 21 et 22 représentent deux racines en fin de culture, et montrent bien les différences qu'on observe dans la production des ébauches de radicelles par les différentes racines.

Triticum vulgare.

Méristèmes cultivés dans 100 cc. de solution minérale glucosée, en présence d'hétéroauxine (1,7 mgr. par litre).

FIG. 21. — Pointe radiculaire peu ramifiée en fin de culture (les tissus corticaux sont détachés du cylindre central).

FIG. 22. — Pointe radiculaire portant, sur son cylindre central mis à nu, une vingtaine d'ébauches méristématiques. (Les tissus corticaux déchirés sont réduits à un lambeau, à droite.)

CONCLUSION.

Lorsque les méristèmes radiculaires de *Zea Mays* et de *Triticum vulgare* sont introduits en milieux minéraux glucosés contenant 1,7 mgr. d'hétéroauxine par litre, la croissance de ces méristèmes est fortement inhibée. Après un mois de culture, les racines isolées de Maïs mesurent au plus 1,8 cm.; celles de *Triticum* au plus 0,7 cm.

La croissance de ces racines isolées se réalise par bonds successifs comme c'est le cas pour les racines normales.

D'autre part, l'hétéroauxine a pour action très nette de faire apparaître une multitude de radicelles et d'ébauches de radicelles après 8 à 10 jours de culture pour les racines de Maïs, et probablement après le 10e jour les racines de *Triticum*. Dans les deux cas l'*hétéroauxine a augmenté le nombre des radicelles ou de leurs ébauches*, comparativement aux résultats obtenus en milieux glucosés dépourvus d'hétéroauxine.

Les radicelles restent toujours courtes; elles ne dépassent jamais 2 mm. de longueur.

Un fait important sur lequel nous attirons l'attention est que *les pointes radiculaires isolées ne répondent pas toutes de la même manière à l'action de l'hétéroauxine. Il en est dont la longueur finale, quoique peu importante, n'est que la moitié ou le tiers de celle d'autres pointes. D'autre part, il en est qui ne portent aucune ébauche de radicelles alors que d'aucunes présentent 30, 60, 90 radicelles (Maïs) ou 5, 10 et 20 radicelles (Triticum)*. De plus, il faut ajouter qu'une remarque s'impose : *les méristèmes de racines d'espèces différentes ne se ramifient pas au même degré, sous l'influence de l'hétéroauxine.*

2. MÉRISTÈMES CULTIVÉS PRÉALABLEMENT SANS HÉTÉROAUXINE AVANT D'ÊTRE SOUMIS A L'ACTION DE CETTE SUBSTANCE.

Les méristèmes sont cultivés pendant 5 jours en solution minérale glucosée dépourvue d'hétéroauxine; l'hétéroauxine est ajoutée aux milieux le 5e jour.

a) **Zea Mays Cinquantino.**

23 méristèmes de 2 mm. au plus sont mis en culture, à la lumière artificielle continue, dans 100 cc. de solution minérale glucosée. Ils proviennent de plantules âgées de 6 jours.

Après 5 jours de culture, sur les 23 racines isolées :

5 racines mesurent moins de 2 cm.;
8 » » de 2 à 3 cm.;
5 » » de 3 à 4 cm.;
4 » » de 4 à 5 cm.;
1 racine mesure 5,5 cm.

Au point de vue du nombre des radicelles, sur 23 racines :

16 racines portent 0 r_1;
5 racines portent de 2 à 7 r_1;
2 racines portent 11 r_1 et 14 r_1 respectivement.

Les différences individuelles sont déjà fort accentuées.

Le 5e jour de culture il est ajouté 10 cc. de solution d'hétéroauxine à chaque milieu, de manière à réaliser une concentration de 1,5 mgr. par litre.

Dès l'addition d'hétéroauxine, la croissance du méristème terminal a été bloquée sur 14 des 23 racines. Chez les 9 autres racines la croissance a été fortement inhibée, mais s'est cependant poursuivie jusqu'au 7e jour, où elle a été bloquée. La croissance des r_1 a cessé immédiatement.

Du 7e au 9e jour de culture (donc 2 à 4 jours après l'addition d'hétéroauxine), on observe sur 14 des 23 racines un accroissement diamétral important de la région méristématique des racines isolées (méristème principal et, éventuellement, méristèmes des radicelles dans les cas où les racines avaient déjà formé des radicelles lors de l'addition d'hétéroauxine).

Vers les 11e et 13e jour (donc du 6e au 8e jour après l'addition d'hétéroauxine) se manifeste sur les racines l'apparition d'ébauches de radicelles sous forme de pointes méristématiques hypertrophiées. A partir de ce moment l'observation macroscopique rigoureuse ne peut plus être réalisée par suite de l'extraordinaire abondance d'ébauches de radicelles accumulées.

Du 13e au 27e jour de culture, 5 racines seulement ont augmenté de 0,2 à 0,5 cm. au plus. Les racines qui se sont encore allongées après l'addition d'hétéro-

auxine n'ont donc gagné que 0,5 cm. au plus; une seule racine s'est allongée de 1 cm.

Le 27e jour, toutes les racines sont observées au binoculaire.

Sur 23 racines :

2 mesurent moins de 2 cm.;
7 » de 2 à 3 cm.;
9 » de 3 à 4 cm.;
3 » de 4 à 5 cm.;
2 » plus de 5 cm.

Elles sont fort diversement ramifiées (photos 18 et 19). Les radicelles apparues après l'addition de l'hétéroauxine mesurent de 0,3 à 0,5 cm. et sont hypertrophiées; ce caractère les fait reconnaître nettement de celles qui sont apparues pendant la culture en solutions glucosées, le diamètre de ces dernières est normal à leur insertion sur la racine.

Les radicelles apparues après le 5e jour, se localisent en abondance aux environs des méristèmes existant déjà le 5e jour de culture; cependant on en trouve aussi tout le long des racines, mais isolées et beaucoup moins nombreuses.

La longueur finale la plus faible est 1,6 cm.; la longueur finale la plus importante 6 cm.

Le nombre de radicelles de 1er ordre (ébauches de radicelles y comprises) varie entre 9 r_1 et 63 r_1.

Sur 23 racines :

1 porte moins de 10 r_1;
6 portent de 11 à 20 r_1;
8 » de 21 à 40 r_1;
8 » de 41 à 63 r_1.

Sur les 23 racines cultivées, 11 présentent des r_2 ou

ZEA MAYS CINQUANTINO

Racines cultivées quatre jours dans 100 cc. de solution minérale glucosée. Au 5e jour, addition de l'hétéroauxine aux milieux (1,5 mgr. par litre).

PHOTO 18.

PHOTO 19.

Les photos 18 et 19 représentent des racines après un mois de culture.
(Noter, en général, une importante localisation des radicelles sur le méristème termin

Photo R. S

ébauches de r_2; le nombre maximum est de 35 r_2.

La production de radicelles peut être tellement considérable que les tissus corticaux de la racine se déchirent, se soulèvent et s'isolent plus ou moins du massif constitué par le cylindre central (voir photo 19 racine de gauche).

Comparons le nombre de radicelles produites par les racines de l'expérience présente (dont les méristèmes ont été prélevés sur des plantules de 6 jours) au nombre de radicelles formées par les racines (provenant de plantules de 6 jours) cultivées en milieux minéraux glucosés. On trouve un maximum de 63 r_1 en présence d'hétéroauxine, contre un maximum de 36 r_1 sans hétéroauxine; un minimum de 9 r_1 avec hétéroauxine et de 0 r_1 sans hétéroauxine.

Il est par conséquent incontestable qu'en présence d'hétéroauxine le nombre de radicelles de 1^er^ ordre est plus élevés que sans hétéroauxine.

b) **Triticum vulgare.**

44 méristèmes de 2 mm. au plus, prélevés sur des plantules de 3 jours, ont été cultivés dans 100 cc. de solution minérale glucosée, à la lumière artificielle continue pendant 5 jours.

A ce moment, sur 44 racines :

4	racines mesurent	moins de 1 cm.;
36	» »	de 1 à 2 cm.;
1	racine mesure	de 2 à 3 cm.;
2	racines mesurent	de 3 à 4 cm.;
1	racine mesure	de 4 à 5 cm.

A part 5 racines portant au plus 3 ébauches de radicelles, aucune racine ne marque de tendance à la ramification.

Le 5e jour, il est ajouté à chaque milieu une solution d'hétérotauxine de manière à réaliser une concentration de 1,5 mgr. par litre.

Après l'addition d'hétéroauxine, nous constatons que sur les 44 racines, la croissance de 9 racines est bloquée instantanément et définitivement; 21 racines

Triticum vulgare.

Méristèmes cultivés dans 100 cc. de solution minérale glucosée, en présence d'hétéroauxine (1,5 mgr. par litre).

FIG. 23.

La racine n'a formé qu'une seule ébauche de radicelle. Il y a hypertrophie de la région méristématique.

FIG. 24.

FIG. 25.

Les figures 24 et 25 montrent bien l'accumulation des ébauches de radicelles à l'endroit où se trouvait la région d'élongation de la racine lors de l'addition d'hétéroauxine.

continuent à s'allonger faiblement pendant 2 jours encore, puis cessent définitivement de croître; 14 autres racines peuvent croître jusqu'au 19e jour après l'addition de l'hétéroauxine. Dans tous les cas la valeur de l'allongement total observé après l'addition de l'hétéroauxine est de **0,4 cm. au grand maximum.**

Dès que l'hétéroauxine est introduite dans les milieux de culture on voit augmenter le diamètre de

TRITICUM VULGARE

Racines cultivées quatre jours dans 100 cc. de solution minérale glucosée. Au 5e jour, il est additionné de l'hétéroauxine aux milieux (1,5 mgr. par litre).

PHOTO 20.

Aspect des racines après un mois de culture.
On voit que la région méristématique est hypertrophiée. Les ébauches de radicelles sont surtout localisées à l'endroit où se trouvait la région d'allongement lors de l'addition aux milieux d'hétéroauxine.

PHOTO 21.

Trois racines de longueur finale comparable et diversement ramifiées.
De gauche à droite : 3,9 cm. et 26 r_1; 3,2 cm. et 4 r_1; 4,3 cm. et 1 r_1.

Photos R. Sauve

la région d'allongement de la racine tandis que le méristème lui-même garde son diamètre original.

Jusqu'aux environs des 12e et 15e jours le méristème terminal continue à s'allonger; dans la portion récemment formée les tissus corticaux se désorganisent fréquemment et peuvent se détacher plus ou moins du cylindre central.

Enfin, vers le 19e jour, la portion méristématique s'hypertrophie encore et le méristème cesse définitivement de croître.

C'est aux environs des 15e et 17e jours (donc 10 à 12 jours après l'addition d'hétéroauxine) qu'apparaissent les premières ébauches de radicelles. Celles-ci se localisent presque exclusivement dans la région de la racine correspondant à l'emplacement de la région d'allongement lorsque l'hétéroauxine a été ajoutée aux milieux.

Après 28 jours de culture les résultats s'établissent comme suit (photos 20, 21 et figures 23, 24, 25).

Sur 44 racines :

2 racines mesurent moins de 1 cm.;
37 » » de 1 à 2 cm.;
2 » » de 2 à 3 cm.;
2 » » de 3 à 4 cm.;
1 racine mesure de 4 à 5 cm.

La racine la moins longue mesure 0,7 cm.; la plus longue mesure 4,3 cm.

Au point de vue du nombre de radicelles :

5 racines portent 0 r_1;
12 » » de 1 à 10 r_1;
15 » » de 11 à 20 r_1;
10 » » de 21 à 30 r_1;
1 racine porte de 31 à 40 r_1;
1 » » 42 r_1.

Il est à noter que les racines peuvent mesurer 3 et 4 cm. et ne porter que 1 ou 4 ébauches de radicelles seulement, alors qu'on trouve plus de 30 radicelles sur des racines de 1,5 cm. environ.

Nous insistons beaucoup sur le fait que des racines de même longueur finale peuvent être ramifiées de manière fort diverse sous l'influence de l'hétéroauxine. Ainsi, la photo 21 représente 3 racines mesurant 3,9, 3,2 et 4,3 cm.; elles portent respectivement 26 r_1 (de 1 mm. ou plus), 4 ébauches de radicelles et 1 ébauche de radicelle.

En solutions minérales glucosées et sans hétéroauxine, il avait été observé au plus 9 r_1 et 15 r_2. En présence d'hétéroauxine le nombre maximum s'élève à 42 r_1; il n'y a pas de r_2.

Chez *Triticum* également, *il est donc incontestable que l'hétéroauxine provoque la formation de radicelles de 1^er^ ordre en nombre plus élevé que dans les milieux sans hétéroauxine.*

CONCLUSION.

Dès l'introduction d'hétéroauxine dans les milieux de culture la croissance des méristèmes de racines ou de radicelles est immédiatement suspendue. Ces méristèmes et la région d'allongement qui leur fait suite augmentent de diamètre. 6 jours au moins après l'addition d'hétéroauxine les racines et radicelles commencent à former de nombreuses ébauches de radicelles. *Celles-ci se localisent en grandes quantités aux environs immédiats des méristèmes et des régions d'allongement.*

Il est indéniable que l'hétéroauxine a pour effet de provoquer l'apparition de radicelles plus nombreuses

FIG. 26. — *Influence de l'hétéroauxine sur les résultats de culture des méristèmes isolés.*

concentration de 1,5 mgr. par litre, l'hétéroauxine inhibe la croissance des racines, provoque un issement diamétral des régions méristématiques et des régions d'allongement. Elle a pour effet ntense prolifération d'ébauches de radicelles, mais exclusivement localisée à ces mêmes régions embryonnaires de la racine.

Les différentes racines ne réagissent pas de la même manière à l'action de l'hétéroauxine (inhibition de la croissance et activation mitosique variables).

que celles qui se forment sur les racines cultivées normalement en milieux minéraux glucosés. Mais ce qui est fort important à retenir c'est que l'hétéroauxine ne semble pas capable de provoquer l'apparition de nombreuses radicelles sur toutes les racines; malgré son action, il reste des racines qui ne sont pas ramifiées ou qui le sont fort peu (moins de 10 r.).

La fig. 26 schématise les résultats obtenus.

II. — Culture de racines fragmentées.

Que va-t-il advenir si nous cultivons, non plus des méristèmes radiculaires, mais des racines de plusieurs centimètres de longueur?

Pour nous faire une idée plus complète de la localisation des radicelles aux différents niveaux de la racine, nous fragmenterons chaque racine en tronçons de 1 cm. de longueur. Une racine de 6 cm. sera donc divisée en 6 segments de 1 cm., en plus du méristème terminal que nous sectionnerons à la longueur de 2 mm. Le méristème et chacun des segments seront mis en culture dans des tubes de 20 cm. de haut sur 2,5 cm. de diamètre, contenant 30 cc. de solution. La culture aura lieu à la lumière artificielle continue et à 26,5° C. de température.

Nous cultiverons d'abord nos racines fragmentées en solution minérale dépourvue d'hétéroauxine (témoins); puis nous les soumettrons à l'action de l'hétéroauxine dès leur mise en culture ou après un séjour de 5 jours dans la solution ne contenant pas d'hétéroauxine.

La présente étude a été faite sur *Zea Mays Cinquantino.*

1. RACINES FRAGMENTÉES CULTIVÉES EN SOLUTION MINÉRALE GLUCOSÉE DÉPOURVUE D'HÉTÉROAUXINE (témoins).

Au cours des 4 premiers jours de culture, il n'apparaît aucun changement dans l'aspect des racines fragmentées. Vers le 4e ou le 5e jour, au plus tôt, il se forme des radicelles sur l'un ou l'autre tronçon.

Dès ce moment le comportement des racines se révèle fort variable. Les différences s'affirment non seulement d'une racine à l'autre, mais surtout, pour une même racine, d'un tronçon à l'autre.

Il ne se forme plus de radicelles sur les corps des racines après le 11e jour de culture. A cette date le nombre définitif de radicelles de 1er ordre est atteint.

Ces radicelles de 1er ordre se ramifient ou non, selon les cas. L'apparition des r_2 se fait au plus tôt le 7e jour.

Les radicelles peuvent s'allonger de plusieurs centimètres; elles peuvent aussi rester courtes.

Inutile de dire que dans de telles conditions on se trouve, après 30 jours de culture, devant des résultats fort complexes.

Envisageons tout d'abord les racines dans leur ensemble avant de voir comment se comportent les différents tronçons d'une même racine.

Sur 35 racines cultivées, une seul n'a produit, en un mois, aucune ébauche de radicelles; 2 portent des radicelles qui ne se sont pas ramifiées; les 32 autres racines portent des radicelles qui, pour la plupart, se sont ramifiées à leur tour (on observe même des r_3 et des r_4).

Pour ce qui est de l'abondance des radicelles, 6 racines sur 32 portent moins de 10 r_1, 14 en ont de 10 à 20, 8 de 30 à 40 et 12 racines plus de 40 r_1.

Deux racines ont formé respectivement 346 et 346 pointes méristématiques de divers ordres.

Nous n'avons pas pu mettre en évidence la moindre relation entre l'abondance de ramification d'une racine et le développement du méristème isolé de cette même racine. Un méristème qui présente un intense développement peut fort bien provenir d'une racine qui ne se ramifie guère, et vice-versa.

Les différents tronçons d'une même racine se comportent de manière tout à fait indépendante. Il en est qui se ramifient intensément alors que leurs voisins ne portent pas de radicelles. Les radicelles tantôt se sont allongées fortement, tantôt sont restées courtes.

Sur un même tronçon radiculaire, des radicelles voisines peuvent se développer considérablement ou ne manifester qu'un allongement et une ramification réduits.

En général un tronçon porte moins de 10 r_1, quel que soit le niveau de la racine dont il provient. Notons cependant qu'il arrive parfois (7 cas sur 35) que le tronçon proximal, c.-à-d. celui qui succédait immédiatement au méristème de la racine, porte 12, 13 ou 15 racines. Dans ce tronçon les radicelles se localisent de préférence à l'extrémité qui se trouvait en connexion avec le méristème.

En conclusion nous constatons que la culture de fragments radiculaires nous donne des résultats tout aussi hétérogènes que celle des méristèmes eux-mêmes.

ZEA MAYS CINQUANTINO

Photo 22.

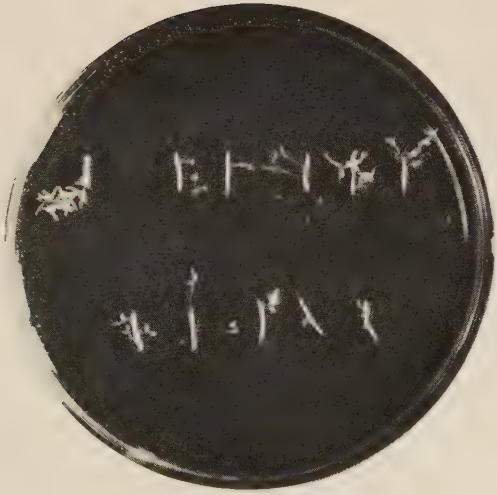


Photo 23.

Racines fragmentées de *Zea Mays Cinquantino*
soumises à l'action de l'hétéroauxine, après avoir d'abord passé cinq jours en
ution minérale glucosée. (Deux racines dans chaque photo; les fragments sont disposés
de gauche [côté de la tige] à droite [côté du méristème].)

Photos R. Sauveur

2. RACINES FRAGMENTÉES CULTIVÉES, DÈS LEUR AMPUTATION, EN SOLUTION MINÉRALE GLUCOSÉE POURVUE D'HÉTÉROAUXINE.

L'apparition des radicelles a lieu au plus tôt le 4e jour de culture, comme dans le cas des racines-témoins. Ces radicelles restent courtes; elles sont hypertrophiées. Après un mois de culture, elles mesurent au plus 1,3 cm. de longueur. Malgré leur faible longueur elles portent des radicelles, courtes, elles aussi, qui peuvent se ramifier à leur tour.

Les résultats sont tout aussi complexes que ceux que l'on a obtenus avec les témoins.

Une conclusion s'impose : la présence d'hétéroauxine n'accroît pas, par rapport aux témoins, le nombre de r_1 apparues sur les tronçons, sauf sur le tronçon proximal et exceptionnellement (2 cas sur 32) sur le tronçon immédiatement suivant. Sur ces 2 tronçons on peut observer jusqu'à 20 r_1 et 21 r_1, contre 15 chez les témoins.

L'hétéroauxine ne produit donc une surproduction de radicelles que sur les tronçons radiculaires les plus proches du méristème terminal, c.-à-d. de formation récente.

3. RACINES FRAGMENTÉES CULTIVÉES 5 JOURS EN MILIEU MINÉRAL GLUCOSÉ; L'HÉTÉROAUXINE N'EST AJOUTÉE QU'AU 5e JOUR.

Les fragments radiculaires, pendant les 5 premiers jours, se comportent naturellement de la même manière que les témoins. A ce moment des radicelles sont apparues sur les tronçons.

Dès que l'hétéroauxine est introduite dans les milieux (concentration finale de 1,5 mgr./litre), la

croissance de toutes les radicelles est suspendue. Les extrémités des radicelles s'hypertrophient.

6 jours au plus tôt après l'addition d'hétéroauxine, c.-à-d. le 11e jour de culture, des pointes méristématiques nouvelles se forment aux environs immédiats des méristèmes des r_1; ces nouvelles radicelles restent courtes et sont hypertrophiées.

Dans les conditions de cette expérience, où les fragments de racines ont eu le temps, pendant 5 jours, d'extérioriser leurs potentialités radiculaires, l'hétéroauxine ne provoque plus aucune néoformation sur les tronçons eux-mêmes, même pas sur le tronçon distal.

Les photos 22 et 23 montrent l'aspect, en fin de culture, des tronçons radiculaires de 4 racines.

CONCLUSION.

Les résultats de la culture de racines fragmentées confirment et complètent ceux que nous avons obtenus par la culture des méristèmes.

Chez les racines-témoins comme chez celles qui ont été soumises à l'action de l'hétéroauxine, les différents tronçons d'une même racine se comportent de façon indépendante, c.-à-d. que les niveaux successifs de la racine ne se ramifient pas de la même manière. D'aucuns se ramifient abondamment alors que d'autres ne se ramifient pas du tout; les radicelles peuvent s'allonger ou rester courtes, se ramifier ou non (voir fig. 27).

La diversité de comportement est telle qu'il est difficile de découvrir une règle dans la localisation des radicelles le long de la racine. Pourtant, dans certains cas, le tronçon distal (en connexion avec le

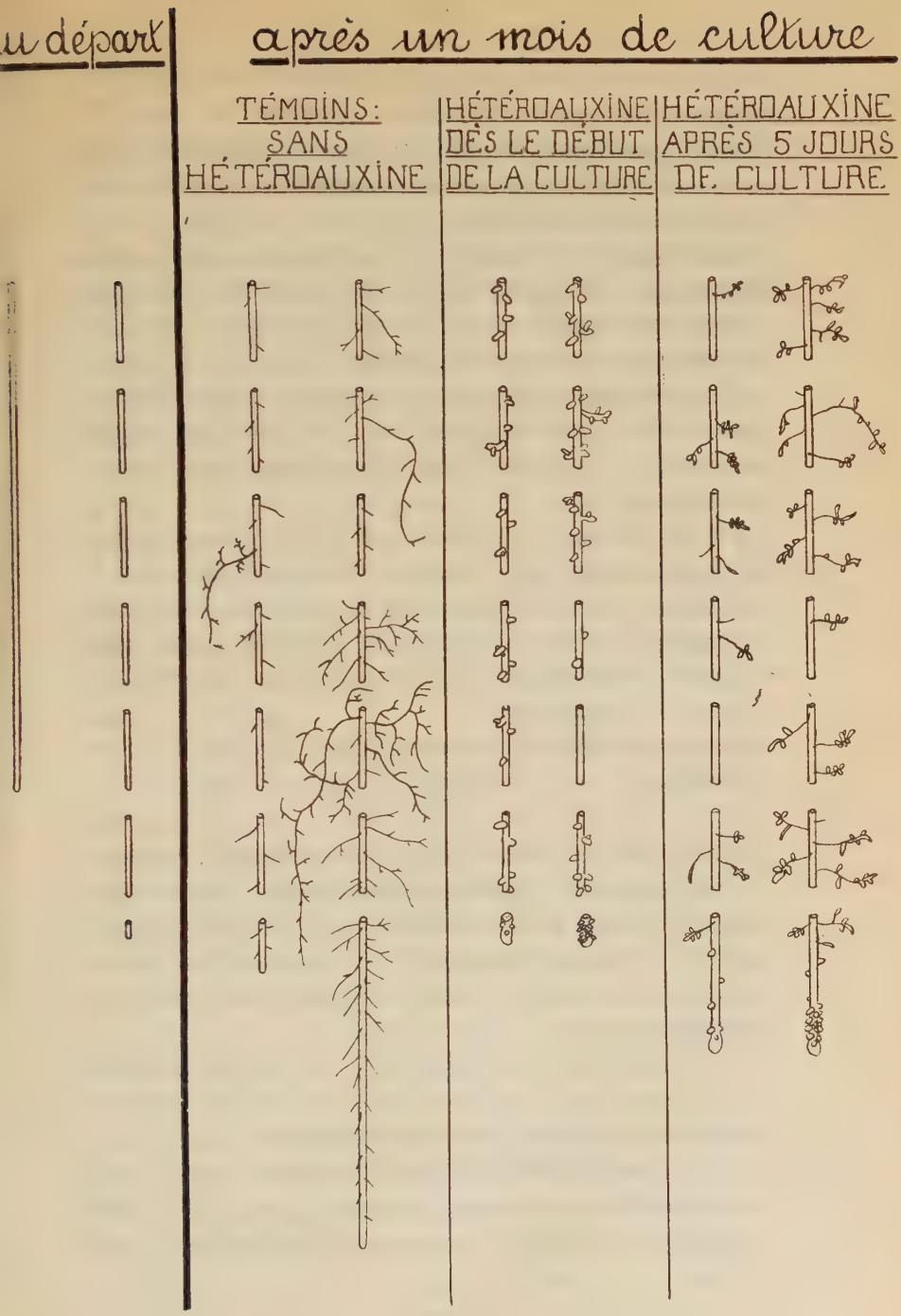


FIG. 27. — *Influence de l'hétéroauxine sur les racines fragmentées cultivées isolément.*

er, tout d'abord, la variabilité des résultats chez les racines témoins, non soumises à l'action de hétéroauxine (les différents tronçons d'une même racine se comportent de manières diverses). étéroauxine inhibe la croissance des radicelles. Elle n'exerce d'activation mitotique que sur les portions jeunes des racines et des radicelles (zones méristématiques et zones d'allongement).

méristème de la racine) porte plus de radicelles de premier ordre que les autres tronçons; de plus, le tronçon proximal (le plus proche de l'insertion de la racine sur la tige) présente généralement moins de radicelles que les autres.

Ainsi donc, la faculté de se ramifier varie, pour une racine, suivant le niveau envisagé; mais il n'y a aucune constance, d'une racine à l'autre, dans la ramification de tel ou tel niveau.

L'hétéroauxine ne provoque aucune surproduction de radicelles sur le corps de la racine, sauf au tronçon proximal. et parfois dans le suivant (cas exceptionnel).

L'hétéroauxine ne produit pas d'effet rhizogène sur les portions âgées des racines. L'importante néoformation de radicelles apparues en milieux contenant de l'hétéroauxine se localise exclusivement aux régions de caractère embryonnaire (méristèmes et zones d'allongements).

Ici encore l'hétéroauxine bloque la croissance des radicelles.

*
* *

La culture des méristèmes et des racines fragmentées en présence d'hétéroauxine nous a montré que cette substance, à la dose de 1,5 ou 1,7 mgr. par litre, inhibe la croissance des méristèmes et active la production de radicelles, résultats déjà signalés par plusieurs auteurs.

L'hétéroauxine manifeste une incontestable action sur la production de radicelles par les méristèmes des racines isolées : elle augmente non seulement le nombre maximum de radicelles observé dans la culture en milieux minéraux glucosés, mais encore elle augmente le nombre de racines abondamment rami-

fiées. Les radicelles apparues sous son action restent courtes et hypertrophiées.

Dans cet effet de l'hétéroauxine il faut distinguer deux phénomènes : un phénomène de corrélation consécutif à l'inhibition de l'allongement du méristème terminal, et surtout un phénomène d'activation mitotique consécutif à l'action localisée de l'hétéroauxine sur les méristèmes et la région d'allongement des racines.

Cependant, l'hétéroauxine ne provoque pas l'apparition de radicelles nombreuses sur toutes les racines expérimentées.

De même, elle ne provoque une intense prolifération de radicelles que sur les régions embryonnaires des racines, exclusivement; de même elle n'exerce aucun effet rhizogène sur une proportion importante de racines.

L'abondance de la néoformation radiculaire est donc limitée par le vieillissement des tissus de la racine, par un seuil individuel propre à chaque racine et de plus, par un seuil propre à son espèce végétale.

Il s'ensuit que l'hétéroauxine n'est un facteur rhizogène que dans la mesure où d'autres facteurs internes à la racine, ne sont pas limitants. Chaque méristème radiculaire et chaque racine sont donc caractérisés par des potentialités de ramification bien définies.

B. — LES POTENTIALITES RHIZOGENES DES RACINES SONT-ELLES ILLIMITEES ?

Pour répondre à cette question, nous ferons tout d'abord une expérience sur des racines fragmentées, ensuite sur des méristèmes isolés. Le matériel employé sera encore *Zea Mays* var. *Cinquantino*.

1. Culture de racines fragmentées.

Au cours d'une expérience (culture de racines fragmentées dans 30 cc. de solution minérale glucosée dépourvue d'hétéroauxine) nous avons observé 3 méristèmes principaux qui, en 20 jours, avaient donné naissance à des racines déficientes au point de vue de la ramification. Les racines que ces méristèmes avaient formé se caractérisaient comme suit :

N°	Longueur.	Nombre de radicelles.
1	5 cm.	0;
2	6 cm.	0;
3	5,5 cm.	3 r_1 (2 mm.).

Cependant, les fragments de la racine mère s'étaient, eux, ramifiés :

N°	Nombre de radicelles produites AU TOTAL par tous les fragments correspondant au méristème.
1	13 r_1 et 0 r_2;
2	2 r_1 et 3 r_2;
3	18 r_1 et 5 r_2.

On voit donc que sauf pour le n° 2, particulièrement déficient, la ramification avait été normale.

Il nous a paru intéressant de surveiller et de traiter spécialement ces trois cultures n° 1, n° 2 et n° 3.

Méristèmes et tronçons furent remis en culture dans 30 cc. de solution minérale glucosée sans hétéroauxine, pendant 20 jours.

Aucun des 3 méristèmes ne s'est plus allongé. Aucune radicelle n'est apparue sur les tronçons. Dans le cas du n° 3, les 3 r_1 de 2 mm. ne se sont ni allon-

gées ni ramifiées. Méristèmes et tronçons étaient pourtant bien en vie; ils présentaient un aspect tout à fait normal et se maintenaient en surface des milieux de culture.

Après 20 jours, de l'hétéroauxine est introduite dans chaque tube de culture (concentration finale de 1,7 mgr. par litre). La culture a été poursuivie pendant 22 jours encore.

En fin de culture, malgré la présence d'hétéroauxine, aucune radicelle n'est apparue ni sur les méristèmes, ni sur les tronçons radiculaires. Nous nous sommes assurés de ce que les racines étaient encore en vie.

Cette expérience nous montre que les racines peuvent perdre progressivement la faculté de se ramifier, faculté non rendue ou réactivée par l'hétéroauxine. C'est ce que confirmera avec plus de netteté l'expérience suivante.

2. Culture de méristèmes.

Nous allons rechercher ici si les nombreuses radicelles dont l'apparition est, d'ordinaire, provoquée par l'hétéroauxine et dont l'allongement reste inhibé tant qu'elles sont maintenues dans la solution, peuvent croître normalement et se ramifier du moment que l'on suspend, pendant un certain temps, l'action de l'hétéroauxine. De plus quel serait l'effet d'une nouvelle addition d'hétéroauxine sur ces racines?

Voici comment nous avons opéré :

55 méristèmes de *Zea Mays Cinquantino*, de 2 mm. de longueur et prélevés sur les plantules de 3 jours, sont mis en culture, à la lumière artificielle continue, dans 100 cc. de solution minérale glucosée.

Après 5 jours de culture, les racines isolées mesurent de 1,4 à 5,5 cm. de longueur; 33 racines sur 55 ne sont pas encore ramifiées. A ce moment il est ajouté de l'hétéroauxine au milieu, de manière à réaliser une concentration finale de 1,5 mgr. d'hétéroauxine par litre de solution.

Le 18e jour de culture (13 jours après l'addition d'hétéroauxine) les racines se présentent comme dans l'expérience précédente correspondante. On observe le blocage de la croissance du méristème de la racine et des ébauches de radicelles. De grandes différences individuelles s'observent d'une racine à l'autre.

Le 25e jour, 12 racines seulement sur 55 n'ont pas manifesté de croissance de leur méristème terminal (pas plus de 0,3 cm.) depuis l'addition d'hétéroauxine aux milieux.

Le 25e jour toutes les racines sont de nouveau transplantées en milieux minéraux glucosés.

Les radicelles continuent à s'allonger. L'une ou l'autre porte des r_2.

Dans l'ensemble, au 33e jour (7 jours après la suppression de l'hétéroauxine), une proportion de 78,2 racines sur 100 peuvent croître encore. Bien mieux, les radicelles dont l'hétéroauxine a provoqué la néoformation s'allongent considérablement (dans certains cas plusieurs centimètres); par contre, dans d'autres cas, elles ne s'allongent que de 0,2 ou 0,3 cm.

Enfin, le 33e jour, il est introduit de nouveau de l'hétéroauxine dans les milieux, à la même concentration finale de 1,5 mgr. par litre.

A la suite de ce dernier traitement, il se produit une nette inhibition de la croissance de tous les méristèmes et une hypertrophie de ceux-ci. Il peut se

ZEA MAYS CINQUANTINO

ines soumises deux fois successivement, à l'action de l'hétéroauxine avec un intervalle de 7 jours dans des milieux minéraux glucosés. (Au 45e jour de culture.)

Photo 24.

Racines chez lesquelles l'hétéroauxine à forte concentration a été incapable de provoquer l'apparition de nombreuses radicelles malgré les deux traitements successifs.

Photo 25.

Photo 26.

acines du même lot chez lesquelles l'hétéroauxine, à forte concentration, a déclenché l'apparition de nombreuses radicelles.

Photos R. Saureur.

manifester une faible néoformation de pointes méristématiques aux environs immédiats des méristèmes des radicelles.

Les photos 24 à 28 représentent quelques-unes des racines, au 45e jour de culture. Elles nous montrent que les différences individuelles sont très fortes, notamment en ce qui concerne le nombre des radicelles, leur longueur et leur ramification.

Des racines ne portent que 5 r_1 alors que d'autres en ont 20, 70, 100 ou plus. Le maximum observé est 122 r_1. La longueur maximum des r_1 est de 2,5 cm. Chez 11 racines sur 55, les r_1 ne dépassant pas 0,5 cm.

On peut trouver sur les radicelles d'une racine de 0 à 63 r_2; parfois aussi des r_3.

Toutes les r_1 qui sont apparues avant la première addition d'hétéroauxine ont eu leur croissance définitivement arrêtée à la suite de l'action de l'hétéoauxine; leur croissance n'a pas repris lorsqu'elles ont été placées en solutions minérales glucosées, mais ces radicelles ont donné naissance à des r_2. Ces r_2 se sont ensuite ramifiées.

Par cette expérience nous constatons encore que l'hétéroauxine agit localement sur les racines : elle n'a d'effet que sur les méristèmes radiculaires et les régions d'allongement. Elle ne semble exercer aucune action sur les autres portions des racines.

D'autre part, il semble bien que certains méristèmes soumis une fois à l'action de l'hétéroauxine et ayant formé de nombreuses ébauches de radicelles peuvent encore manifester une certaine croissance si on les replace en solutions minérales glucosées. *Mais après la seconde addition d'hétéroauxine il n'est plus*

apparu d'ébauches de radicelles sur la repousse du méristème de la racine que dans un seul cas.

Les nombreuses radicelles formées sur les racines sous l'influence d'un premier traitement à l'hétéroauxine peuvent croître normalement lorsque les racines sont soustraites à l'action de l'hétéroauxine; elles peuvent également se ramifier dans ces conditions, mais ne forment que 4 à 5 r_2.

La production des r_2 sur les r_1 est beaucoup moins importante que la production de r_1 sur la racine elle-même. A la suite de la seconde addition d'hétéroauxine, les *méristèmes de ces radicelles semblent ne pouvoir produire que fort peu d'ébauches méristématiques*, en comparaison de celles que le méristème principal forme lors de la toute première addition.

En somme, il semble donc que les méristèmes ne soient pas capables de former indéfiniment des ébauches de radicelles sous l'influence répétée de fortes concentrations d'hétéroauxine.

Cette capacité paraît se réduire progressivement :

1° Les méristèmes principaux soumis une seconde fois à l'action de l'hétéroauxine ne manifestent plus l'abondante prolifération caractéristique de celle qui est consécutive à la première action.

2° Les méristèmes des radicelles, soumis à une seconde action de l'hétéroauxine, ne forment que fort peu de pointes méristématiques, en comparaison de la réaction du méristème principal lors de la première action de l'hétéroauxine.

ZEA MAYS CINQUANTINO

cines soumises deux fois successivement, à l'action de l'hétéroauxine avec un intervalle de 7 jours dans des milieux minéraux glucosés. (Au 45e jour de culture.)

Photo 27.

Photo 28.

es radicelles se sont allongées considérablement lorsque les racines, après le premier raitement, ont été transplantées en milieux dépourvus d'hétéroauxine: une nouvelle ddition d'hétéroauxine provoque l'apparition de points méristématiques aux environs es méristèmes des radicelles, mais ces primordiums sont devenus très peu nombreux.

Photos R. Saurcur.

DISCUSSION ET CONCLUSIONS DE LA DEUXIEME PARTIE.

Beaucoup d'auteurs ont publié que l'hétéroauxine (acide β. Indol acétique) a une action hormonale spécifique sur la genèse des racines. Nous avons cherché à comprendre l'action de ce corps. D'une manière générale, elle n'a d'effet rhizogène qu'à forte concentration comme R. Bouillenne l'a fait remarquer en 1937. C'est pourquoi nous l'avons utilisée aux concentrations de 1,5 et 1,7 mgr. par litre (forte concentration, mais en dessous du seuil de toxicité). Nous confirmons que, dans ces conditions l'hétéroauxine, a une nette action rhizogène, bien que cependant celle-ci ne soit pas du tout générale ni homogène dans les divers lots de méristèmes cultivés en conditions standardisées, *in vitro*. Nous confirmons aussi que cette substance provoque un arrêt de la croissance des méristèmes (voir aussi Fiedler, Geiger-Huber et Burlet, Segelitz). La croissance n'est plus que de 0,5 cm. chez *Zea Mays Cinquantino* et 0,4 cm. chez *Triticum*. Cependant l'on sait qu'à faibles concentrations (d'ordre biologique 0,005 par mille, Fiedler, Geiger-Huber et Burlet) cette même substance accélère la croissance des racines.

De plus, aux faibles concentrations, elle ne semble pas avoir d'effet spécial sur la néoformation des racines.

Aux fortes concentrations utilisées ici, l'hétéroauxine produit une prolifération de radicelles plus importante que celle que présentent les témoins : par exemple, 119 radicelles contre 94 pour Maïs et 20 radicelles contre 9 pour *Triticum* (valeurs maxima obser-

vées). Cette prolifération est très nettement localisée; elle se manifeste aux environs des pointes méristématiques (méristème principal et méristèmes de radicelles ainsi qu'à la région d'allongement); dans les régions constituées de tissus plus anciens, l'hétéroauxine ne provoque pas l'apparition d'ébauches méristématiques en nombre plus élevé que si l'hétéroauxine n'est pas appliquée.

L'action activante de mitoses n'est pas générale, car beaucoup de racines ne se ramifient pas plus abondamment en présence d'hétéroauxine que les témoins. Bien mieux, on peut amener les racines à ne plus former de nouveaux méristèmes en présence d'hétéroauxine.

En effet, les multiples pointes méristématiques formées sous l'action de l'hétéroauxine peuvent s'allonger et se ramifier faiblement lorsque les racines sont transplantées en milieux sans hétéroauxine. Mais alors il semble bien que ceux-ci ne soient plus capables de former de nouvelles radicelles, même lorsqu'on les soumet une fois encore à l'action de l'hétéroauxine.

Dans ces conditions, il est clair que l'hétéroauxine ne peut être considérée comme un facteur spécifiquement rhizogène. La production de radicelles par une racine isolée dépend d'un ou de facteurs cellulaires internes et limitants, qui ne sont pas l'hétéroauxine, et dont les racines sont plus ou moins abondamment pourvues.

Ces facteurs sont responsables de la grande diversité de la ramification observée d'une racine à l'autre et, sur une même racine, d'un niveau à l'autre. Ils paraissent surtout localisés dans les régions embryonnaires des racines.

L'action de l'hétéroauxine se ramène ainsi à celle d'un activant des mitoses; elle est de nature pharmacodynamique et non organogénique. Cette substance a joué le rôle ,dans nos expériences, d'un « détecteur » des potentialités rhizogènes des racines.

Nous aboutissons donc ainsi aux mêmes conclusions que W. Cooper (1935-1938), Went (1938) et R. Bouillenne et M. Bouillenne-Walrand (1938).

Ainsi, par la culture des racines isolées, nous avons pu mettre en évidence l'existence de facteurs cellulaires internes, qui régissent, en dernière analyse, la croissance et la ramification des racines. L'importance de ces facteurs est telle que, s'ils font défaut, les racines cessent de croître et de se ramifier, quelle que soit l'excellence du milieu de culture.

On nous objectera qu'expliquer le développement par des potentialités de croissance et de néoformation revient à poser le problème sous une autre forme et à ne rien expliquer du tout. C'est invoquer un *deus ex machina* qui dissimule notre ignorance.

Quels peuvent bien être ces facteurs représentatifs de ces « potentialités »?

Seraient-ce des facteurs substantiels? Dans ce cas nous pensons avoir démontré, en ce qui concerne la croissance, que ce n'est pas la vitamine B_1 et, en ce qui concerne la rhizogenèse que ce n'est pas l'hétéroauxine.

Nous serions tenté d'appeler ce ou ces facteurs rhizocaline, comme l'ont proposé, déjà en 1933, R. Bouillenne et F. Went; et sans rien préjuger encore de leur nature, nous penserions volontiers, en vue d'expliquer l'action de l'hétéroauxine, que la production de radicelles résulterait de la combinaison de l'hétéroauxine avec la rhizocaline présente

dans certains méristèmes; l'indifférence manifestée par d'autres méristèmes à l'action de l'hétéroauxine serait due à l'absence de rhizocaline.

L'étude comparative du métabolisme des racines de comportement si variable et la recherche de leurs différences physicochimiques pourront seules, sous peine de tomber dans une impasse, nous donner des précisions nouvelles. C'est ce que P. Prevot vient de faire ressortir dans un important mémoire sur la néoformation des bourgeons (1939).

RESUME.

Grâce à la méthode de culture *in vitro* de méristèmes radiculaires isolés, prélevés sur les plantules cultivées à l'obscurité, et maintenus dans des conditions rigoureusement standardisées, nous avons pu mettre en évidence :

1° L'existence de facteurs internes caractérisant chaque méristème au départ des cultures. Ces facteurs sont responsables de la croissance et de la ramification extrêmement variables des méristèmes.

2° La perte progressive de ces facteurs à mesure qu'augmente l'âge chronologique de la plantule mère dont est cultivé le méristème.

3° L'influence de l'espèce, de la variété, de l'âge physiologique et de la vigueur de la plantule mère sur le développement des méristèmes isolés;

4° La périodicité généralisée de l'allongement et de la ramification des méristèmes dans les différents milieux de culture normaux (solution minérale glucosée dépourvue ou pourvue d'extrait de levure).

5° L'impossibilité pour les méristèmes provenant de culture d'embryons isolés de leurs réserves, de s'allonger et de se ramifier, en solution minérale glucosée.

6° L'influence de l'extrait de levure qui en rend possible l'allongement et la ramification dans une certaine mesure.

7° L'impossibilité pour l'extrait de levure, d'atténuer la variabilité considérable des résultats de culture.

Cette mise au point préalable, qui a permis de discerner la présence des facteurs internes affectant les méristèmes en culture, était nécessaire pour approfondir l'étude du mécanisme de la formation et de la croissance des racines.

L'hétéroauxine introduite en forte concentration nous a donné les résultats suivants :

8° Inhibition de la croissance du méristème de la racine principale, comme de celui des radicelles.

9° Prolifération de radicelles et localisation de celles-ci dans le méristème lui-même et dans la zone d'allongement; inefficacité de l'hétéroauxine sur les portions âgées des racines.

10° Cessation de l'inhibition de la croissance des méristèmes dès que la culture est soustraite à l'hétéroauxine.

11° Réapparition de l'inhibition de la croissance par un second contact avec l'hétéroauxine, mais, cette fois, sans nouvelle formation d'ébauches radiculaires sur le méristème principal.

12° La culture des méristèmes radiculaires *in vitro*, telle que nous l'avons réalisée, nous permet d'affirmer que la vitamine B_1 conditionne la croissance des racines, et que l'hétéroauxine conditionne la prolifération radiculaire, dans la mesure où d'autres facteurs internes (Rhizocaline) sont présents dans les méristèmes et se combinent avec elle.

Laboratoire de Physiologie végétale,
Institut de Botanique de l'Université de Liége

BIBLIOGRAPHIE.

ADDICOT FR. (1939), Vitamin B_1 in relation to meristematic activity of isolated Pea Roots (*Bot. Gaz.*, **100**, p. 836).

BONNER J. et ADDICOT FR. (1937), Cultivation *in vitro* of excised Pea Roots (*Bot. Gaz.*, **99**, p. 144).

BONNER J. et GRACE AXTMAN (1937), The growth of plant embryons *in vitro*. Preliminary experiments of the role of accessory substances (*Proc. of Nat. Ac. Soc.*, **23**, p. 453).

BOUILLENNE R. (1935), Congrès International de Botanique d'Amsterdam (*Compte rendu et Discussions*).

— (1937), L'action des phytohormones sur la croissance, la division des cellules et l'organogenèse (*Bull. Soc. roy. S. Liége*, séance du 18 novembre 1937, n° 11).

BOUILLENNE R. et BOUILLENNE-WALRAND M. (1938), Contribution à l'étude de la néoformation et de la croissance des racines. Rhizocaline, hétéroauxine, acides aminés, vitamine B_1 (*Bull. Soc. roy. Bot. Belgique*, **71**, fasc. 1, p. 43).

BOUILLENNE R. et WENT F. W. (1933), Recherches expérimentales sur la néoformation des racines dans les plantules et les boutures des plantes supérieures (*Ann. Jard. Bot. Buitenzorg*, **43**).

BOYSEN JENSEN (1936), Growth hormones in plants (AVERY et BURKHOLDER, New-York).

BURLET E. (1936), Zur Methodik der pflanzlichen Organkultur (*Verhandl. Schweizer Naturforsch. Ges. Solothurn*, p. 312).

COOPER W. C. (1935), Hormones in relation to root formation on stem cuttings (*Plant. Phys.*, **10**, p. 789).

— (1936), Transport of root-forming hormone in woody cuttings (*Plant. Phys.*, **11**, p. 779).

— (1938), Hormones and root formation (*Bot. Gaz.*, **99**, p. 599).

DAUPHINE A. (1929), Sur le développement d'organes embryonnaires isolés (*C. R. Soc. Biol.*, **102**, p. 652).

DELARGE L. (1936), Note sur la différenciation des bourgeons et des racines et la production de tissu indifférencié chez *Crinum capense* L. (*Bull. Soc. roy. Bot. Belgique*, **69**, fasc. 1, p. 28).

— (1937), Recherches sur la culture d'une Schizophycée : *Phormidium uncinatum* GOM. (Extr. *Mém. Soc. roy. Sc. Liége*, 4e sér., **2**, et *Arch. Inst. Bot. Univ. Liége*, **13**).

— (1938), Cultures de méristèmes radiculaires *in vitro*. Les variations individuelles et leur signification physiologique (*Bull. Soc. roy. Bot. Belgique*, **71**, fasc. 1, p. 73).

— (1939), Croissance et ramification des racines cultivées isolément (*Bull. Soc. roy. Sc. Liége*, nos 6-7, juin 1939).

DUHAMEL-DUMONCEAU (1758), *Physique des arbres*, Paris.

FELBER PISCK I. (1931), Ueber das Wachstum isolierten Wurzeln (*Akad. Wiss. Wien. Math. Nat. Kl.*, **140**, p. 67).

FIEDLER H. (1936), Die pflanzliche Gewebe- und Organkultur. Sammelreferat (*Zeitschr. f. Bot.*, **33**, p. 369).

GALLIGAR G. C. (1936), Influence of certain organic substances upon the growth behaviour of excised root tips (*Trans. Illinois State Academy of Science, Papers in Botany*, 1936 Meeting, p. 59).

— (1938), Temperature effects upon the growth of excised root tips (*Plant. Phys.*, **13**, p. 835).

— (1938), Correlation between growth of excised root tips and types of food stored in the seed (*Plant Phys.*, **13**, p. 599).

GAUTHERET R. (1932), Sur la culture des extrémités de racine (*C. R. Soc. Biol.*, **109**, p. 1236).

— (1933), Cultures de méristèmes de racines de *Zea Mays* (*C. R. Acad. Sciences*, (1), **85**).

— (1935), *Recherches sur la culture des tissus végétaux. Essais de culture de quelques tissus méristématiques*, Paris.

— (1937), La culture des tissus végétaux, son état actuel, comparaison avec la culture des tissus animaux (*Actual. Scient. et Industr.*, Paris, Hermann et Cie).

— (1937), Action de l'acide indol β acétique sur le développement de plantules et de fragments de plantules de *Phaseolus vulgaris* (*C. R. Soc. Biol.*, **126**, p. 312).

— (1938), La culture des tissus végétaux (*Sciences*, revue A.F.A.S., n° 20, p. 57).

GEIGER HUBER M. (1936), Der Einfluss des Wuchshormons (Heteroauxin) auf das Wurzelwachstum (*Verh. Schweiz. Naturf. Ges. Solothurn*).

Geiger Huber M. et Burlet E. (1936), Ueber den hormonalen Einfluss der β Indolessigsaüre auf das Wachstum isolierter Wurzeln in keimfreier organkultur (*Jahrb. f. Wissensch. Bot.*, **84**, p. 231).

Kögel et collaborateurs (1934-1938), voir Bibliographie dans Boysen-Jensen, *Growth hormones in Plants.*

Kotte W. (1922), Kulturversuche mit isolierten Wurzeln (*Beiträge z. Allgem. Bot.*, **2**, p. 413).

— (1922), Wurzelmeristem in Gewebkultur (*Ber. d. deutsch. Bot. Ges.*, **40**, 8, p. 269.

Kupfer (1907), Studies in Plant Regeneration (*Diss. New York Mem. Torrey Bot. Club*, **12**, S. 195).

Lazar O. (1935), L'action du Carotène comme activateur de la néoformation des racines chez *Impatiens Balsamina* L. (*Mém. de la Soc. roy. Sc. Liége*, 4e sér., **1**, fasc. 2-3).

Laibach et collaborateurs (1933-1938), voir Bibliographie dans Went et Thimann, *Phytohormones.*

Malyschev N. (1932), The growth of isolated meristems of roots (*Preslia*, **11**, p. 59).

— (1932), Das Wachstum des isolierten Wurzelmeristems auf sterilen Nährböden (*Biol. Centralbl.*, **52**, p. 257).

Molliard M. (1921), Sur le développement de plantules fragmentées (*C. R. Soc. Biol.*, **84**, p. 770).

Prévot P. (1939), La néoformation des bourgeons chez les végétaux (*Mém. Soc. roy. Sc. Liége*, 4e sér., **3**).

Robbins W. J. (1922), *a.* Cultivation of excised root tips and stem tips under sterile conditions (*Bot. Gaz.*, **73**, p. 376).

— (1922), *b.* Effect of autolyzed yeast and peptone on growth of excised corn root tips in the dark (*Bot. Gaz.*, **74**, p. 59).

Robbins W. J. et Maneval W. E. (1923), Further experiments on growth of excised root tips under sterile conditions (*Bot. Gaz.*, **76**, p. 274).

— (1924), Effect of light on growth of excised root tips under sterile conditions (*Bot. Gaz.*, **76**, p. 424).

Robbins W. J. et White V. B. (1936), Limited growth and abnormalities in excised corn root tips (*Bot. Gaz.*, **98**, p. 209).

— (1937), Effect of extracts from the corn plant on growth of excised root tips (*Bot. Gaz.*, **98**, p. 520).

Robbins W. J., White V. B , Mc Lary J. E. et Bartley M. A. (1936), The importance of ash elements in the cultivation of excised root tips (*Proc. Nat. Acad. Sc.*, **22**, p. 636).

ROBBINS W. J. et BARTLEY M. A. (1937), *a.* Vitamin B_1 and the growth of excised tomato roots (*Sc.*, **85**, p. 247).

— (1937), *b.* Thiazole and the growth of excised tomato roots (*Proc. Nat. Acad. Sc.*, **23**, p. 395).

— (1937), *c.* Use of dextrose by excised Tomato roots (*Sc.*, **86**, p. 290).

ROBBINS W. J. et BARTLEY M. SCHMIDT (1938), Growth of excised roots of the Tomato (*Bot. Gaz.*, **99**, p. 671).

SACHS (1882), *Stoff und Form der Pflanzenorgans.*

SCHEITTERER-BERTHA (1931), Versuche zur Kultur von Pflanzengeweben (*Arch. f. Exp. Zellforsch.*, **12**, p. 141).

SEGELITZ G. (1938), Der Einfluss von Licht und Dunkelheit auf Wurzelbildung und Wurzelwachstum (*Planta*, **28**, p. 617).

THIMANN K. V. et WENT F. W. (1934), On the chemical nature of the root forming hormone (*Proc. Kon. Akad. Wetensch. Amsterdam*, **37**, p. 456).

TSUNG-LE-LOO et SHIH-WEI-LOO (1935), Studies on the culture of isolated root-tips under sterile conditions. 1. The effects of leaf extract on the growth or root tips (*Sc. Rep. Nat. Centr. Univ.*, sér. B, Biology, **2**, n° 2, p. 51).

WENT F. W. (1938), Specific factors other than auxin affecting growth and root formation (*Plant Phys.*, **13**, p. 55).

WENT F. W. et THIMANN (1937), *Phytohormones*, New York.

WHITE P. R. (1931), Plant tissue cultures. The history and present status of the problem (*Arch. f. Exp. Zellf.*, **10**, p. 501).

— (1932), Plant tissue cultures. A preliminary report of results obtained in culturing of certain plant meristems (*Arch. f. Exp. Zellf.*, **12**, p. 602).

— (1932), Influence of some environmental conditions on the growth of excised root tips of wheat seedlings in liquid media (*Plant Phys.*, **7**, p. 613).

— (1933), Concentrations of inorganic ions as related to growth of excised root tips of wheat seedlings (*Plant Phys.*, **8**, p. 489).

— (1933), Liquid media substrata for the culturing of isolated root tips (*Biol. Zentralbl.*, **53**, p. 359).

— (1933), The S. H. radical and some other sources of sulphur as affecting growth of isolated root tips of wheat seedlings (*Protopl.*, **19**, p. 132).

— (1934), Potentially unlimited growth of excised tomato root tips in a liquid medium (*Plant Phys.*, **9**, p. 585).

White P. R. (1936), Plant tissue cultures (*Bot. Rev.*, **2**, p. 419).

— (1937), Comparison of nutrient salt solutions for the cultivation of excised tomato roots (*Growth*, **1**, p. 182).

— (1937), Seasonal fluctuations in growth rates of excised Tomato root tips (*Plant Phys.*, **12**, p. 183).

— (1937), Survival of isolated tomato roots at suboptimal and supraoptimal temperatures (*Plant Phys.*, **12**, p. 771).

— (1937), Separation from yeast of materials essential for growth of excised Tomato roots (*Plant Phys.*, **12**, p. 777).

— (1937), Amino-acids in the nutrition of excised tomato roots (*Plant Phys.*, **12**, p. 793).

— (1937), Vitamin B_1 in the nutrition of excised tomato roots (*Plant Phys.*, **12**, p. 803).

— (1938), Cultivation of excised roots of Dicotyledonous plants (*Amer. Journ. Bot.*, **25**, p. 348).

— (1938), Accessory salts in the nutrition of excised Tomato roots (*Plant Phys.*, **13**, p. 391).

Zimmerman P. W. et collaborateurs (1936-1938), travaux nombreux dans *Contrib. Boyce Thompson Institution.*

TABLE DES MATIERES.

Pages.

BIOGRAPHIE DE LÉON DELARGE, PAR R. BOUILLENNE III

HOMMAGE D'UN PÈRE À SON FILS, PAR G. DELARGE XI

INTRODUCTION 1

LITTÉRATURE 9

I. Aperçu historique.. 11

II. Les conditions de culture des racines isolées 18

1. Les constituants du substrat... 18

a) Solution minérale. 18

b) Aliment sucré. 21

c) Substances additionnelles 23

2. Nature et volume du substrat. 27

3. Lumière 28

4. Température 30

5. Résumé. 31

III. La variabilité de comportement des racines isolées.. ... 32

MATÉRIEL ET TECHNIQUE 38

1. Matériel d'étude 38

2. Technique... 42

a) Désinfection et germination des graines. 42

b) Milieu de culture.. 45

c) Conditions de culture. 49

d) Technique de repiquage... 51

e) Mesure des résultats... 52

PREMIERE PARTIE

Étude analytique du développement des racines *in vitro* 55

CHAPITRE I. — *Éclairement et aération des cultures* (expérience préliminaire).. 55

CHAPITRE II. — *Résultat final de la culture en milieux « déficients » des méristèmes radiculaires isolés*.. 67

A. Culture des méristèmes et âge chronologique des plantules mères 68

1. Méristèmes prélevés sur des plantules de 3 jours ... 68

a) *Zea Mays* var. *Cinquantino*... 68

b) *Zea Mays* var. *Blanc des Landes* 71

c) *Triticum vulgare*... 76

Discussion 80

Pages.

2. Méristèmes prélevés sur des plantules de 6 jours (*Zea Mays* var. *Cinquantino*) 87

3. Méristèmes prélevés sur des plantules âgées, résultant du développement d'embryons isolés (*Zea Mays* var. *Cinquantino*).. 91

Discussion 97

B. Culture des méristèmes, âge physiologique et vigueur des plantules mères 99

1. Méristèmes prélevés sur des plantules de 3 jours ... 99

a) *Zea Mays* var. *Cinquantino*... 99

b) *Zea Mays* var. *Blanc des Landes* 101

c) *Triticum vulgare*... 102

2. Méristèmes prélevés sur des plantules de 6 jours (*Zea Mays* var. *Cinquantino*) 104

Discussion 106

CHAPITRE III. — *Résultat final de la culture des méristèmes radiculaires isolés en milieu complet* 110

A. Culture des méristèmes et âge chronologique des plantules mères 111

1. Méristèmes prélevés sur des plantules de 3 jours ... 111

a) *Zea Mays* var. *Cinquantino*... 111

b) *Zea Mays* var. *Blanc des Landes* 119

c) *Triticum vulgare*... 126

2. Méristèmes prélevés sur des plantules âgées, résultant de la culture d'embryons isolés 131

a) *Zea Mays* var. *Cinquantino*... 131

b) *Zea Mays* var. *Blanc des Landes* 134

Discussion 135

B. Culture des méristèmes et âge physiologique des plantules mères 139

a) *Zea Mays* var. *Cinquantino*... 142

b) *Zea Mays* var. *Blanc des Landes* 142

c) *Triticum vulgare*... 143

Discussion 144

CHAPITRE IV. — *Courbes de croissance et nombre des radicelles au cours de la culture des racines isolées en milieu déficient et en milieu complet* 144

a) *Zea Mays* var. *Cinquantino*... 145

b) *Zea Mays* var. *Blanc des Landes* 154

c) *Triticum vulgare*... 155

Discussion 159

CONCLUSIONS DE LA PREMIÈRE PARTIE 165

DEUXIEME PARTIE

Pages.

Étude de la rhizogenèse sur les racines cultivées *in vitro* 175

A. *Les potentialités rhizogènes des racines isolées* 177

I. Culture de méristèmes 178

1. Méristèmes soumis, dès leur isolement, à l'action de l'hétéroauxine 178

a) *Zea Mays* var. *Cinquantino*... 178

b) *Triticum vulgare*.. 183

Conclusion 185

2. Méristèmes cultivés préalablement sans hétéroauxine avant d'être soumis à l'action de cette substance.. 186

a) *Zea Mays* var. *Cinquantino*... 186

b) *Triticum vulgare*.. 189

Conclusion 192

II. Culture de racines fragmentées 194

1. Racines fragmentées cultivées en solution minérale glucosée dépourvue d'hétéroauxine (témoins)... 195

2. Racines fragmentées cultivées dès leur amputation en solution minérale glucosée pourvue d'hétéroauxine... 197

3. Racines fragmentées cultivées 5 jours en milieu minéral glucosé; l'hétéroauxine n'est ajoutée qu'au 5e jour. 197

Conclusion 198

B. *Les potentialités rhizogènes des racines sont-elles illimitées ?*... 201

1. Cluture de racines fragmentées 202

2. Culture de méristèmèes (action répétée de l'hétéroauxine) 203

DISCUSSION ET CONCLUSIONS DE LA DEUXIÈME PARTIE 207

RÉSUMÉ 211

BIBLIOGRAPHIE.. 213

TABLE DES MATIÈRES 219

Imprimé en Belgique.

RHIZOGENÈSE CHEZ *COLEUS*, SOUS L'INFLUENCE DE L'HÉTÉROAUXINE.

HISTOLOGIE ET PHYSIOLOGIE DU PHÉNOMÈNE

par **J. MOUREAU.**

Travail du laboratoire de Physiologie végétale : Prof. R. Bouillenne.
(Institut de Botanique de l'Université de Liége).

Au cours de ces dernières années, le problème de la rhizogenèse a soulevé de nombreuses controverses.

Les recherches s'orientèrent dans le sens de l'action des phytohormones après la découverte de l'auxine par Went, en 1928, et surtout après les travaux de Bouillenne et Went en 1933, sur la rhizocaline. Cette dénomination fut proposée par ces auteurs pour désigner le ou les agents formateurs des racines.

On trouvera l'historique de la question dans les monographies de Boysen Jensen, de Thimann et Went, etc.

Les travaux, en 1935, de Went et de Thimann et Koepfli, semblent démontrer que la rhizocaline est identique à l'auxine. Went abandonne l'hypothèse de la rhizocaline et considère l'auxine comme la « root-forming substance ».

Bientôt on découvrit un nombre de plus en plus considérable de substances agissant comme l'auxine. Mais, d'autre part, R. Bouillenne (1937) trouve dans ses expériences de bonnes raisons de rester fidèle à sa conception de la rhizocaline : complexe *substantiel* responsable de la différenciation des cellules en voie de multiplication, vers la formation d'une structure typique d'organe. Enfin, les travaux de certains zoologistes comme Neddham, Speehman, Beadle et Ephrussi attirent l'attention des botanistes sur les organisateurs animaux. On en revient petit à petit à l'idée qu'il existe chez les plantes comme chez les animaux des substances spécifiques dont le rôle serait d'orienter la différenciation cellulaire vers la formation d'organes bien déterminés.

Selon R. Bouillenne (1938), il convient de distinguer dans la question de la

rhizogenèse, d'abord les phénomènes qui, en un endroit donné, déclenchent le réveil mitotique d'un tissu ; ensuite les phénomènes qui déterminent, parmi les nouvelles cellules formées, une différenciation aboutissant à la constitution de structures typiques d'un organe : racines-bourgeons-fleurs. La rhizocaline fonctionnerait comme un organisateur des structures radiculaires.

Pendant que nous poursuivions nos recherches parurent trois publications, une de Cooper et deux de Went, où les auteurs rapportent avoir mis en évidence l'existence d'un facteur interne, d'une substance, nécessaire à la formation des racines. Cette substance, qui n'est pas l'auxine, n'est, en somme, rien d'autre que la rhizocane postulée par Bouillenne et Went en 1933.

Il est incontestable que l'hétéroauxine appliquée sur les tissus de certaines plantes provoque une prolifération remarquable de racines. Cependant, R. et M. Bouillenne, 1939, ont montré que des « root-test » d'*Impatiens Balsamina* ne produisent pas plus de racines après traitement à l'hétéroauxine que sans, et que d'autre part ils obtiennent des racines sur des tissus qui ne contiennent à l'analyse aucune trace d'auxine. Dans ces conditions, il nous paraît que les auxines en général ne sont pas indispensables à la formation des racines.

Dès lors, le point central du problème à résoudre est de savoir quels sont les rôles respectifs des auxines et de la rhizocaline dans les phénomènes de la rhizogenèse.

Nous avons volontairement choisi comme matériel une plante qui sert, dans certains laboratoires allemands et américains, à démontrer le rôle direct de l'auxine dans l'organogenèse radiculaire. Nous avons eu à notre disposition *Coleus Blumei* Benth., var. *Triomphe de Luxembourg*. (1) Cette plante produit spontanément et très facilement des racines.

Afin de nous garder contre toute interprétation facile, nous avons fait une étude anatomique approfondie des tissus de la tige et de leur évolution normale ainsi que des modifications produites dans ces tissus par un traitement à l'hétéroauxine. Cette partie nous fournit une base suffisante pour organiser les expériences physiologiques qui constituent la deuxième partie de ce travail.

(1) Probablement un hybride. Cette variété provient des collections de l'Institut de Botanique de l'Université de Liége et d'un supplément dû à la générosité d'un horticulteur de Spa.

ÉTUDE ANATOMIQUE

INTRODUCTION

L'étude anatomique des tissus de la tige de *Coleus Blumei* Benth. et de leur évolution a été faite comparativement sur plantes normales et sur plantes traitées à l'hétéroauxine.

Le traitement à l'hétéroauxine a été réalisé à la manière des auteurs qui ont utilisé ce matériel. Il s'agit d'une pâte de lanoline dans laquelle est incorporée une certaine quantité d'hétéroauxine. (Pour la préparation de cette pâte, voir technique p. 172). Généralement les auteurs se sont servi de boutures et ont appliqué l'hétéroauxine sur le 3e entre-nœud à partir du sommet (Laibach et son Ecole, 22 et suiv. — 1935).

Nous avons étudié les caractéristiques des divers entrenœuds des boutures de manière à les comparer soigneusement au 3e entre-nœud généralement traité.

Nous avons tout d'abord précisé les processus du développement d'une plante normale dans les conditions bien définies et maintenues constantes de nos cultures.

Ensuite, nous avons déterminé anatomiquement, à quelles variations internes correspondent ces changements extérieurs.

Dans ces conditions, nous avons eu à notre disposition une base suffisante pour comprendre l'action de l'hétéroauxine sur les tissus non seulement au point de vue anatomique mais aussi au point de vue physiologique (voir 2e partie).

I. Matériel.

Coleus Blumei Benth., variété *Triomphe de Luxembourg*, est caractérisé par une tige droite, robuste, d'un vert tendre, couverte de poils glanduleux. Les feuilles sont opposées, elles mesurent environ 10 cm. quand elles sont adultes. Elles sont entières, dentées, vertes, panachées de rouge et de jaune, les dents sont grandes et arrondies. Les entre-nœuds ont une taille moyenne de 2,5 à 3 cm.

Cette variété donne facilement un grand nombre de boutures. Nous avons pu ainsi avoir continuellement à notre disposition un matériel abondant, frais, d'aspect comparable et d'origine connue.

Pour faciliter notre exposé, nous supposons qu'une bouture de *Coleus* se compose d'un certain nombre de segments bien déterminés que nous désignons par le terme « éléments de tige ». Un élément de tige comprend (voir schéma Fig. 1) :

1° une paire de feuilles

2° une portion de tige (le nœud de cette paire de feuilles et l'entre-nœud jusqu'au nœud immédiatement inférieur).

La partie terminale de la tige, dont les tissus sont encore à l'état méristématique

(bourgeon terminal) ou bien n'ont pas encore terminé leur élongation (jeunes feuilles et jeunes entre-nœuds) sera considérée comme ne constituant qu'un seul élément (la taille totale ne dépasse jamais 1 cm.). Cette manière de faire n'offre aucun inconvénient et simplifie notre exposé.

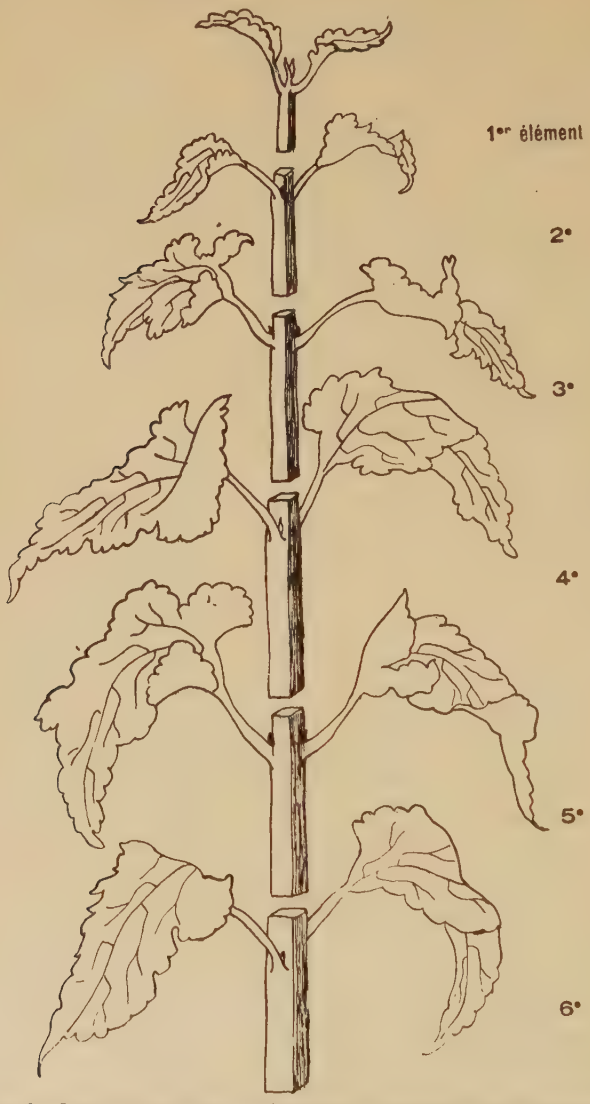


Fig. 1. — Bouture de *Coleus* comportant 6 éléments, délimités théoriquement comme ci-dessus.

Nous avons désigné chacun des éléments de haut en bas par un numéro d'ordre. Le fait que nous utilisons des boutures exclut l'ordre de numérotation de bas en haut

que l'on emploie généralement pour les plantules dont on peut aisément suivre le développement dans le temps à partir des premières activités de la plantule. Notre numérotation correspond à l'évolution des tissus au sein de la tige pendant sa croissance. Le premier stade de cette évolution se retrouve au contact du méristème terminal.

Nous introduisons ainsi dans nos recherches le point de vue des âges physiologiques par lesquels passent les tissus tout comme les organismes entiers.

Nous avons choisi dans un lot de *Coleus Blumei* Benth. cultivé en pleine terre, quatre plantes parfaitement saines et comparables (taille et PRODUCTION DE RACINES au moment du bouturage).

De ces 4 plantes, nous avons tiré par bouturage sur terreau l'abondant matériel nécessaire à nos recherches.

Nous avons utilisé les boutures obtenues progressivement. Pour la recherche anatomique, trente de ces boutures sont cultivées sur sable arrosé 2 fois par jour à l'eau de la distribution. Ce sable a été au préalable soigneusement lavé à l'acide chlorhydrique et rincé à l'eau alimentaire.

D'une manière générale, les boutures sont cultivées en lumière solaire dans une couche spécialement aménagée dans la serre de Physiologie du Jardin de Botanique de Liége. La température de la couche varie entre 28 et 30°. La teneur en eau de l'atmosphère est maintenue aussi voisine que possible de 90 %. L'air de la couche est renouvelé chaque jour par une aération d'une heure.

II. DÉVELOPPEMENT DES BOUTURES :

Dans ces conditions, les plantes ont une croissance très régulière.

1. *Tige.* Il se forme une nouvelle paire de feuilles tous les 12 à 15 jours. Chaque nouvel élément de tige met environ 15 jours pour atteindre une longueur de 6 millimètres. Ce n'est qu'après un mois environ qu'il mesure 2,5 à 3 cm., taille moyenne qu'atteignent des « éléments » ayant pratiquement terminé leur élongation.

Les feuilles augmentent rapidement de surface pendant les 20 premiers jours. Dans la suite, elles ne croissent plus que dans de faibles proportions. Elles jaunissent et se détachent de la tige après 3 mois environ. Cependant leur insertion sur la tige devient fragile un mois après leur formation.

2. *Racines :* Les racines que forment les boutures sont nombreuses, longues, fines. Elles apparaissent aussi bien au-dessus de la surface du sol qu'en-dessous. Elles croissent rapidement et se ramifient très tôt. Tous les individus que nous avons cultivés ont formé des racines adventives. Nous avons remarqué :

1° *que ces racines apparaissent, pour la plupart, sur les arêtes de la tige ;*

2° que parfois il s'en forme dans le plan médian des faces de la tige *immédiatement sous l'insertion d'une feuille ;*

3° qu'il n'en apparaît *jamais* sur *le premier élément* de tige dont l'élongation est rapide, *ni sur le deuxième* qui s'allonge encore faiblement ;

4° que dans le cas d'une bouture de 6 éléments, les premières racines (12 en moyenne) apparaissent à la base du 6e élément après 6 à 7 jours de culture. Puis il s'en forme sur le 5e et sur le 4e. Les dernières racines sont produites par le troisième élément, 25 à 30 jours après le bouturage. Cet élément en porte en moyenne 2.

5° que malgré l'identité des conditions de température, d'humidité et d'éclairement, le nombre total des racines, de même que la densité du réseau de base, varie souvent d'un individu à l'autre sans que rien dans l'aspect extérieur de la bouture puisse faire prévoir un tel résultat. Ces variations individuelles sont parfois si importantes qu'elles peuvent susciter des erreurs graves dans l'interprétation des résultats La nature du substratum, sable ou terreau, ne semble pas jouer de rôle.

Nous avons cependant dans la suite pu réduire notablement l'ordre de grandeur des variations en *sélectionnant les boutures par rapport au nombre de racines* et en tirant de ces plantes les jeunes pousses nécessaires à nos expériences. Grâce à cette précaution, nous avons eu des lots où les variations individuelles ont été de l'ordre de celles que l'on admet généralement dans de telles expériences. Elles ont oscillé autour de 12 racines. Nous retiendrons spécialement de ces observations que les racines sont produites seulement par des éléments qui ont cessé de s'allonger et qui, par conséquent, ont atteint un stade bien défini de leur évolution histologique. C'est ce que nous allons élucider au point de vue anatomique.

Nous avons donc paré aux variations individuelles du nombre des racines des boutures, en tirant tous nos sujets d'expérience d'un lot de plantes issues de boutures ayant produit une même moyenne de racines.

III. — Observations anatomiques — Plante normale.

Les résultats de nos expériences préliminaires ont attiré notre attention sur deux points.

A) la localisation des néoformations radiculaires sur la tige ;
B) l'apparition en ordre acropète des racines sur la tige.

A) *Localisation des néoformations radiculaires.*

Qu'est-ce qui, dans la structure interne de la tige, détermine les endroits où se forment les racines ?

Une simple coupe nous révèle que la localisation des néoformations radiculaires le long des arêtes et selon la ligne médiale des faces, sous l'insertion des feuilles, coïncide avec la présence, en ces endroits, des faisceaux de la tige.

A ceux-ci, se raccordent les tissus vasculaires de la racine.

Il s'agit donc de déterminer :

quels sont les rapports qui existent entre les tissus vasculaires de la tige, ceux des feuilles et ceux des racines néoformées ?

quels sont les tissus qui donnent naissance aux primordium radiculaires ?

1° *Rapports vasculaires entre tige et feuilles et entre feuilles et racines néoformées.*

Les racines qui se forment sur une ligne médiane de la face de la tige, sous l'insertion d'une feuille sont en connection avec le faisceau médian de cette feuille. Il y a donc entre les racines et les feuilles une relation anatomique directe que nous essayerons de mettre en évidence par l'étude physiologique.

2° *Origine des racines.*

Une coupe faite à la base d'une bouture cultivée dans l'eau depuis 6 à 7 jours nous montrera à peu près tous les stades primitifs de la néoformation d'une racine. Celle-ci se forme au contact des faisceaux foliaires à partir de trois tissus : les rayons médullaires, le phloème et l'assise profonde du parenchyme cortical voisine de ces tissus. L'étude détaillée de son développement sera faite plus loin, quand nous étudierons les effets de l'hétéroauxine sur la structure de la tige.

B) *Mode d'apparition des racines ou formation acropète des racines sur la tige.*

Le second problème, susceptible d'être éclairé par une étude anatomique, est le suivant : Quelle relation existe-t-il entre l'évolution des tissus de la tige et la néoformation des racines ?

Nous avons fait une série de coupes à différents niveaux dans une même tige.

La première coupe intéresse le sommet de la tige. Elle est faite immédiatement sous le bourgeon terminal. La Fig. 2 représente un angle de cette coupe. Les 3 faisceaux qui constituent le massif libéro-ligneux angulaire sont nettement visibles. Celui du centre est un sympodaire. Celui de gauche est constitué de la fusion d'un latéral et d'un intermédiaire venant d'un des 2 derniers primordium foliaires formés. Celui de droite a la même origine mais vient d'un des primordium de l'avant dernière paire formée. Le parenchyme médullaire est déjà très évolué. Il est constitué de grandes cellules séparées par des méats plus ou moins étendus. Il ne contient pas de chlorophylle. Le procambium intrafasciculaire n'a pas encore commencé sa différenciation, il ne présente encore aucune division caractéristique du cambium.

L'anneau de procambium interfasciculaire se distingue par ses cellules nettement plus petites que celles des parenchymes médullaire et cortical, mais ne présente pas encore d'activité mitotique amenant sa différenciation en cambium. Le parenchyme cortical est constitué de 8 à 10 couches de cellules hexagonales, riches en chlorophylle et sans méats. Enfin l'épiderme est peu cutinisé et porte des poils glandulaires.

La 2e coupe, représentée par la Fig. 3, a été faite immédiatement sous l'insertion de la première paire de feuilles. A ce niveau les parenchymes cortical et médullaire présentent les mêmes caractéristiques que dans la coupe précédente.

Le procambium intrafasciculaire a commencé sa différenciation en cambium : on en distingue nettement les divisions caractéristiques. Le procambium interfasciculaire commence à se différencier mais uniquement au voisinage des faisceaux.

Dans la troisième coupe Fig. 4, faite à la base du 1er élément, c'est-à-dire immédiatement au dessus de la 2e paire de feuilles, le cambium intrafasciculaire est nettement différencié. Il a déjà formé d'une part du xylème secondaire, d'autre part du phloème

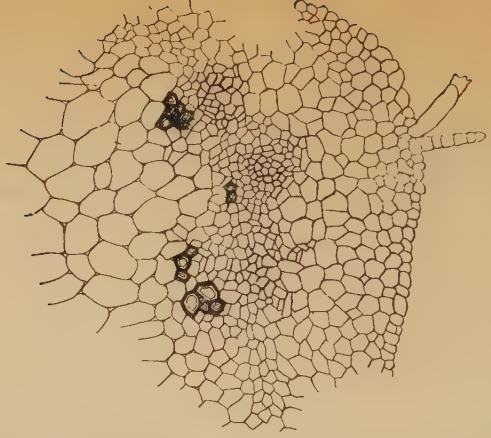


FIG. 2. — Coupe faite dans la tige de *Coleus Blumei* immédiatement sous le bourgeon terminal, dans le 1er élément de tige. Le dessin représente un angle de la tige montrant les 3 faisceaux, 2 foliaires et 1 sympodaire. Ni le cambium intrafasciculaire, ni le cambium interfasciculaire ne se sont encore différenciés ; l'anneau de procambium se distingue. (Réduction 2/3).

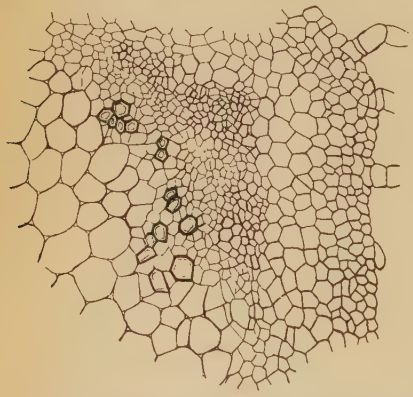


FIG. 3. — Dessin d'une coupe faite dans le haut du 1er élément de tige, immédiatement sous l'insertion de la première paire de feuilles épanouies. On remarque le début de la différenciation du cambium intrafasciculaire.

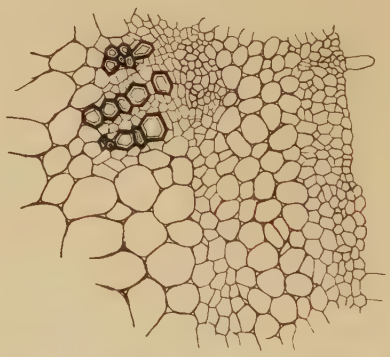


FIG. 4. — Dessin d'une coupe faite à la base du premier élément de tige. On remarque le degré d'évolution du cambium intrafasciculaire et des formations secondaires.

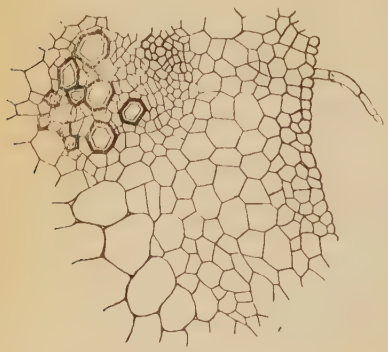


FIG. 5. — Dessin d'une coupe faite au sommet du 2me élément de tige. Quelques rares divisions du procambium interfasciculaire.

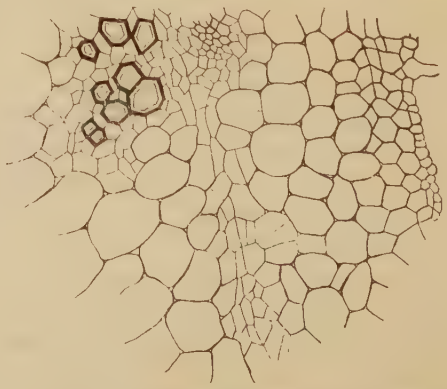


FIG. 6. — Dessin d'une coupe faite à la base du 2me élément de tige. On remarque la différenciation du cambium interfasciculaire.

secondaire. Le procambium interfasciculaire n'a guère évolué par rapport au stade précédent. On constate quelques rares divisions dans le parenchyme cortical.

Au sommet du 2e élément de tige, les tissus présentent sensiblement le même degré d'évolution qu'à la base du premier. Le cambium intrafasciculaire continue son développement normal. Le procambium interfasciculaire commence à se différencier. Les autres tissus en sont toujours au même stade que précédemment. La Fig. 5 représente ce niveau.

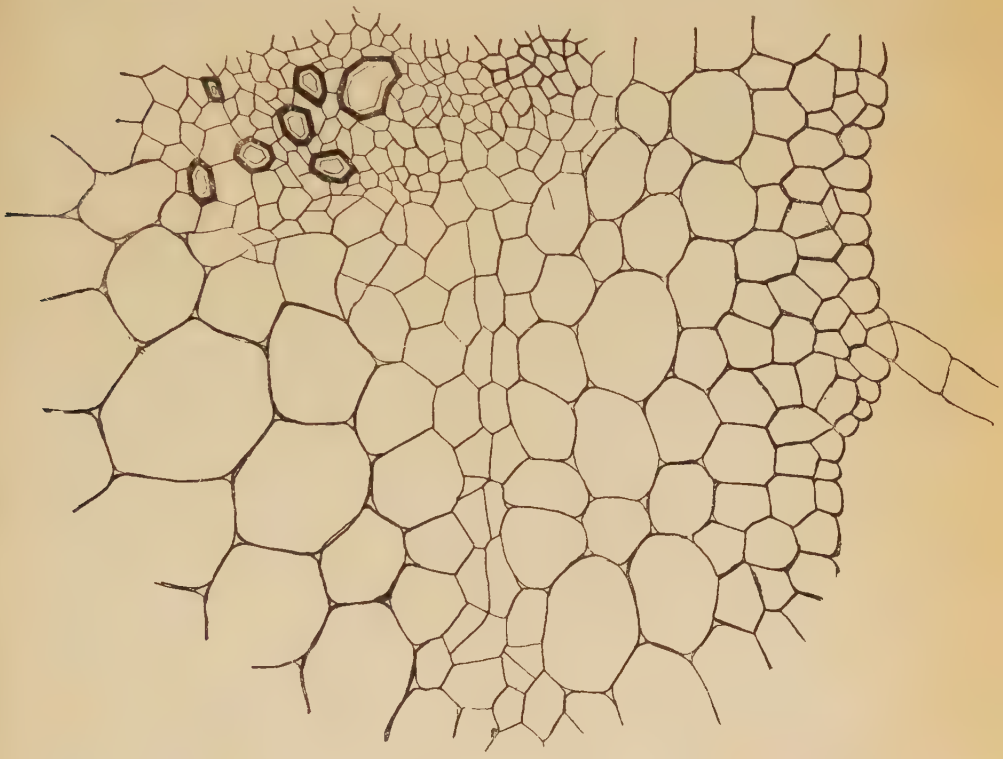


Fig. 7. — Coupe faite au sommet du 3me élément de tige. Le cambium interfasciculaire est déjà nettement caractérisé quoique peu développé. (Réduction 1/3).

A la base du 2e élément de tige les tissus sont nettement plus évolués qu'au sommet. Le parenchyme médullaire présente toujours les mêmes caractéristiques mais ses cellules sont plus grandes, à sections circulaires, séparées par de larges méats. Les formations secondaires intrafasciculaires sont nettement plus importantes (Fig. 6).

Le procambium interfasciculaire s'est différencié en un cambium typique. L'assise interne du parenchyme cortical présente une activité mitotique, particulièrement au voisinage immédiat des faisceaux. Les autres cellules se sont aggrandies, sont moins anguleuses et des méats apparaissent entre elles.

Au sommet du 3e élément de tige (Fig. 7) les tissus présentent sensiblement le même stade évolutif qu'au niveau précédemment étudié. L'on constate cependant quelques divisions cellulaires dans la couche externe du parenchyme médullaire, en contact avec les faisceaux foliaires.

La base du 3e élément de tige se caractérise par un nouveau stade de l'évolution des tissus (Fig. 8). A ce niveau les cellules du parenchyme médullaire sont devenues énormes. Celles des assises intermédiaires du parenchyme cortical se sont aggrandies et aplaties radialement. Le cambium interfasciculaire est en pleine activité, il compte 3 à 4 couches de cellules.

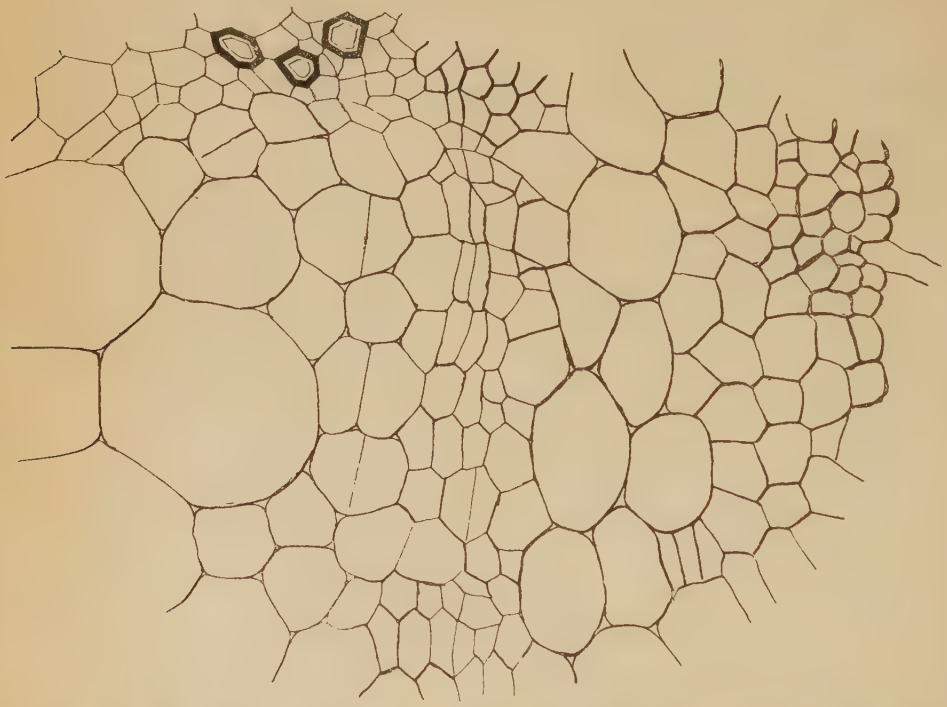


Fig. 8. — Coupe faite à la base du 3me élément de tige montrant le degré d'évolution du cambium interfasciculaire. Certaines cellules de la moëlle se divisent.

Certaines cellules de la couche externe se sont divisées selon des cloisons perpendiculaires à l'anneau de cambium, amenant ainsi un début de formation de phloème secondaire. La couche externe de la moelle, celle qui est en contact avec le cambium, se cloisonne activement, parallèlement aux divisions caractéristiques du cambium.

A partir de ce stade, les tissus semblent évoluer beaucoup plus rapidement.

Au sommet du 4e élément de tige (Fig. 9) le cambium produit activement d'une part de petites cellules qui constitueront le phloème secondaire, d'autre part, des cellules plus grandes, hexagonales, dont la disposition en rangées radiales fait prévoir

leur différenciation en xylème secondaire. Des couches plus profondes du parenchyme médullaire montrent des divisions cellulaires toujours parallèles à l'anneau de cambium. Les membranes cellulaires des 2 couches les plus externes du parenchyme cortical s'épaississent. Quelques cellules des couches profondes de ce parenchyme se divisent perpendiculairement à l'anneau de cambium.

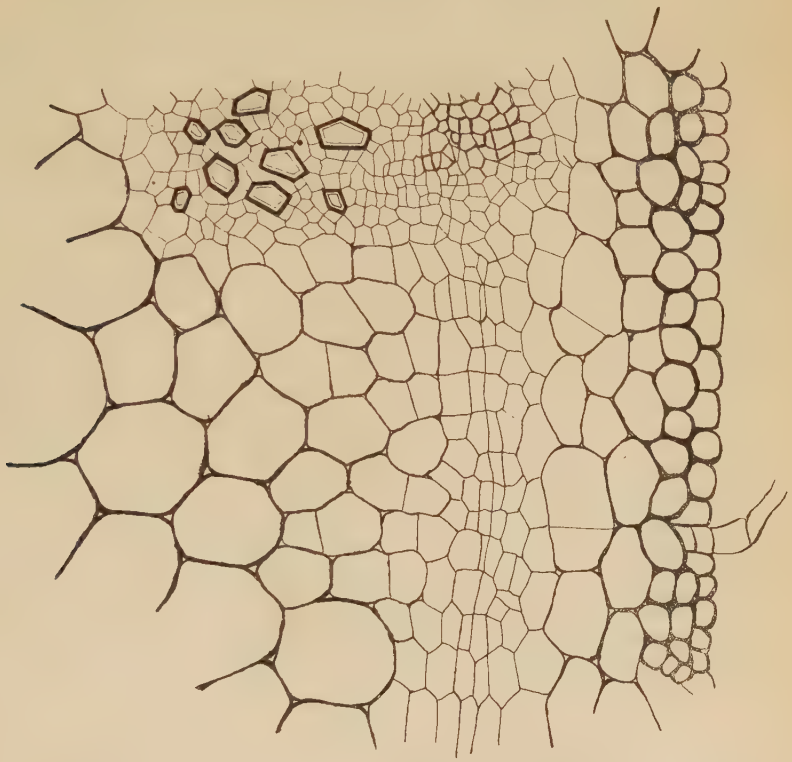


Fig. 9. — Coupe faite au sommet du 4me élément de tige. Développement du cambium et début des formations secondaires interfasciculaires.

A la base du 4e élément de tige (Fig. 10) la différenciation des éléments secondaires se poursuit. Les couches externes du parenchyme médullaire continuent à se diviser parallèlement au cambium. Le parenchyme cortical présente de nombreuses divisions se faisant perpendiculairement ou parallèlement au cambium. Les couches externes de l'écorce se transforment en un léger collenchyme.

Au sommet du 5e élément l'activité du cambium se manifeste de plus en plus par l'importance des formations secondaires. Les divisions de cellules parenchymateuses sont plus rares. On n'en constate plus dans la moëlle mais encore quelques unes dans l'écorce (Fig. 11).

A la base du 5e élément de tige, le phloème secondaire est nettement différencié. Le xylème secondaire commence à se marquer ; les membranes des cellules des

couches profondes commencent à s'épaissir. Les divisions cellulaires ont pratiquement cessé dans les parenchymes (Fig. 12).

Résumons-nous et tentons de caractériser chaque élément de tige par le stade de son évolution histologique.

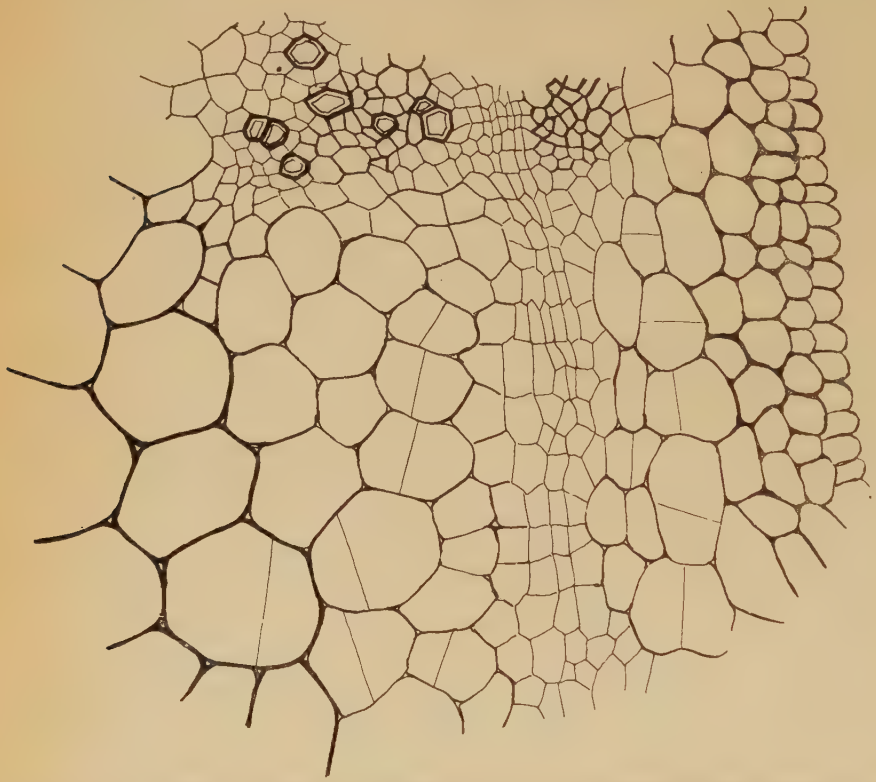


Fig. 10. — Coupe faite à la base du 4^{me} élément de tige. Les formations secondaires se sont développées radicalement laissant prévoir la différenciation du xylème secondaire. Le phloème secondaire commence à se distinguer.

Nous avons :

dans le premier élément :	formation du cambium intrafasciculaire
dans le second élément :	formation du cambium interfasciculaire
dans le 3^{e} élément :	début de formation d'éléments secondaires par le cambium interfasciculaire et divisions cellulaires dans les couches parenchymateuses voisines.
dans le 4^{e} élément :	mêmes phénomènes que dans le 3^{e}, mais plus accentués.
dans le 5^{e} élément :	amplification des activités cambiales — diminution progressive des activités mitotiques des parenchymes.

A chaque élément de tige d'une bouture normale correspond donc un stade bien

déterminé de l'évolution des tissus. Ce stade peut se définir par l'activité du cambium. Ainsi le 3e élément de tige se caractérise par le début de la formation à partir du cambium d'éléments vasculaires secondaires.

Or, nous avons vu que de haut en bas, l'élément, capable de produire des racines, est précisément le 3e. Il ne s'en forme jamais sur le 1er, ni sur le 2e. Nous pouvons donc conclure que la formation des racines adventives sur la tige de notre *Coleus* coïncide avec le début de l'activité génératrice du cambium interfasciculaire.

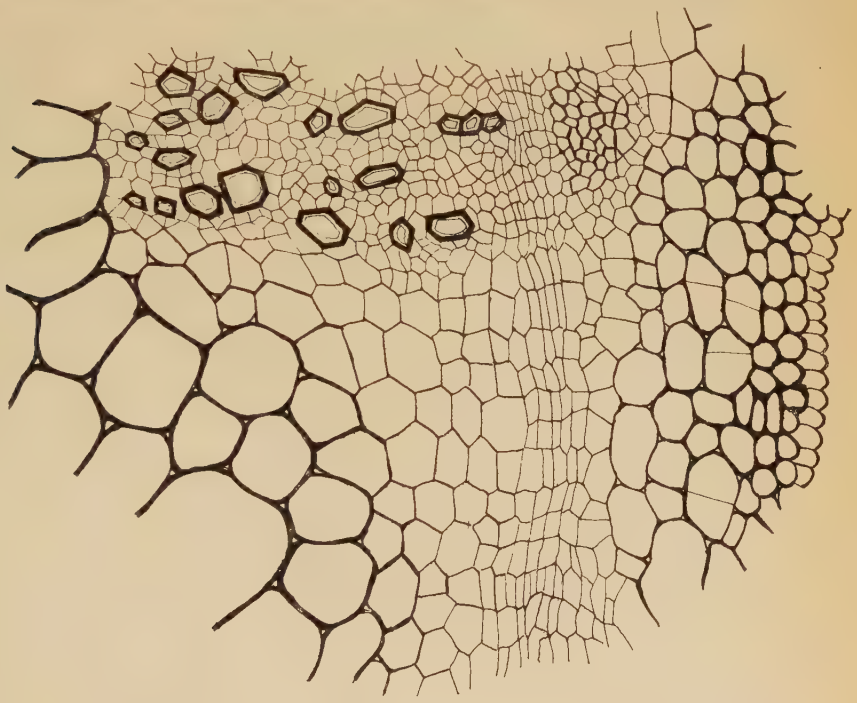


Fig. 11. — Coupe faite au sommet du 5me élément de tige.

IV. Changements de structure dus au traitement a l'hétéroauxine.

Il résulte de l'étude précédente, que la formation normale de racines adventives sur un élément de tige de *Coleus* coïncide avec le début de la différenciation, à partir du cambium interfasciculaire, d'éléments de xylème et de phloème secondaires. Cette coïncidence se produit dans le 3e élément de tige et jamais dans des éléments moins avancés dans leur différenciation .

Or, en faisant agir l'hétéroauxine (3 %) sous forme de pâte sur le 2e élément de tige et même sur le 1er, nous avons provoqué l'apparition de racines sur ceux-ci.

Cette apparition de racines s'accompagne de modifications anatomiques dans le 2me élément de tige où nous allons les examiner de près, tout au moins dans les stades de début ; mais en outre, il se produit un gonflement parfois important de

toute la région qui a reçu l'application de l'hétéroauxine. Cette prolifération tissulaire n'est cependant pas constante (voir plus loin fig. 22, dans le cas d'une application unilatérale et remarques p. 175).

Existe-t-il une relation entre les deux phénomènes : évolution du cambium et néoformation radiculaire ?

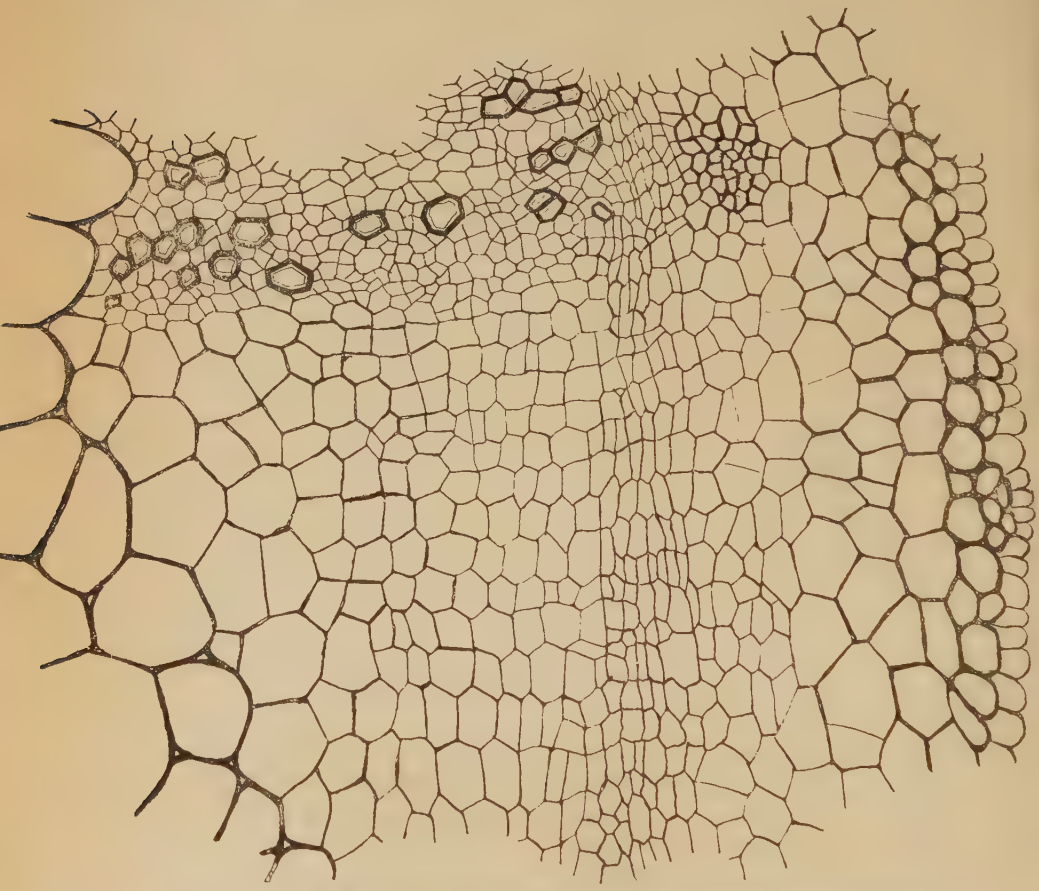


FIG. 12. — Coupe faite à la base de 5me élément de tige. Les formations secondaires sont nettement différenciées. Les membranes des cellules du xylème commencent à s'épaissir, ainsi que celles des cellules des couches profondes.

Pour répondre à cette question, il nous suffit d'observer au microscope les transformations anatomiques que le traitement à l'hétéroauxine provoque sur le 2e élément de tige par exemple.

Nous avons appliqué un anneau de pâte de lanoline contenant 3 % d'hétéroauxine, sous l'insertion de la 2e paire de feuilles d'une série de boutures aussi semblables que possible. Nous avons suivi la technique de LAIBACH (voir 22 et suivants), exposée dans la technique de notre étude physiologique.

A partir du troisième jour de traitement nous prélevons, de jour en jour, dans le deuxième élément, une série de coupes microscopiques. Nous comparons à ces coupes celles que nous faisons au même niveau dans le deuxième élément de boutures de même âge, non traitées, mais cultivées dans les mêmes conditions.

Les éléments non traités présentent les caractéristiques d'un élément normal : le cambium interfasciculaire est en voie de formation.

Dans les éléments traités, après trois jours, l'anneau de cambium est formé, les mitoses sont nombreuses, particulièrement au voisinage des faisceaux, au sein des parenchymes. L'activité génératrice du cambium commence à se manifester. Les tissus du deuxième élément traité présentent les caractéristiques que nous avons décrites plus haut dans un troisième élément normal. Dans les témoins, ce stade de développement n'est atteint que douze jours plus tard.

De plus un phénomène qui se produit dans les tissus du troisième élément d'une plante non traitée à l'hétéroauxine et qui y passe souvent inaperçu parce qu'il est peu fréquent, acquiert, dans le deuxième élément traité, un développement considérable. Quelques cellules des rayons médullaires en contact avec le cambium et le phloème se divisent activement. Il se forme des masses plus ou moins volumineuses dont le contenu cellulaire est dense et réfringent.

A ce stade, rien dans l'aspect et la position des masses par rapport aux faisceaux ne permet de préciser si nous sommes en présence d'une ébauche d'organe ou d'une simple prolifération cellulaire.

Dans les dessins qui illustrent ce développement, nous n'avons représenté le contenu cellulaire (en pointillé) que dans les masses en activité mitotique.

La fig. 13 nous donne un schéma d'ensemble d'un massif libéro-ligneux angulaire de la tige, dans lequel se sont formées trois de ces masses indifférenciées représentant trois stades successifs d'évolution. L'une des masses, à droite, a déjà atteint un développement tel que le cambium s'est infléchi et que le faisceau libéro-ligneux voisin paraît désorganisé. La fig. 14 représente à un plus fort grossissement ce même massif cellulaire. On voit nettement au centre de la masse, les contours des quelques cellules qui manifestèrent les premières cette activité mitotique si particulière.

La fig 15 représente un stade plus avancé de ces massifs méristématiques. L'activité mitotique a gagné les couches profondes du parenchyme cortical et les cellules voisines du phloème secondaire. Rien encore dans cette masse cellulaire ne laisse prévoir sa différenciation en primordium radiculaire. Cinq jours après le commencement du traitement à l'hétéroauxine l'activité méristématique s'est étendue au cambium et aux cellules en contact avec le xylème du faisceau (fig. 15).

Ces masses méristématiques, à partir de ce stade, ne poursuivent pas toutes le même développement.

Dans certaines d'entre elles l'activité mitotique cesse bientôt, les cellules augmentent de volume et perdent leur réfringence. Elles finissent par se confondre avec celles du parenchyme voisin.

Dans d'autres, celles qui se sont formées au contact des faisceaux des feuilles

de l'élément lui-même, les activités mitotiques s'intensifient. Les masses s'allongent radialement et prennent la forme d'un cône. Seules les cellules du sommet du cône continuent à se diviser activement. Les autres s'allongent et ne tardent pas à se différencier en éléments parenchymateux, libériens ou ligneux. Il s'agit bien clairement d'un primordium radiculaire (fig. 16). Plus tard ce primordium fera saillie à la surface de la tige et constituera une racine adventive typique. (Fig. 17). Cette figure montre une coupe faite dans un 2e élément de la tige traité à l'hétéroauxine, 13 jours après l'application de la pâte. Le cambium, à cette date, a formé des éléments secondaires importants. Le phloème secondaire est nettement différencié. Les membranes des cellules qui formeront l'anneau de deutéroxylème commencent à s'épaissir.

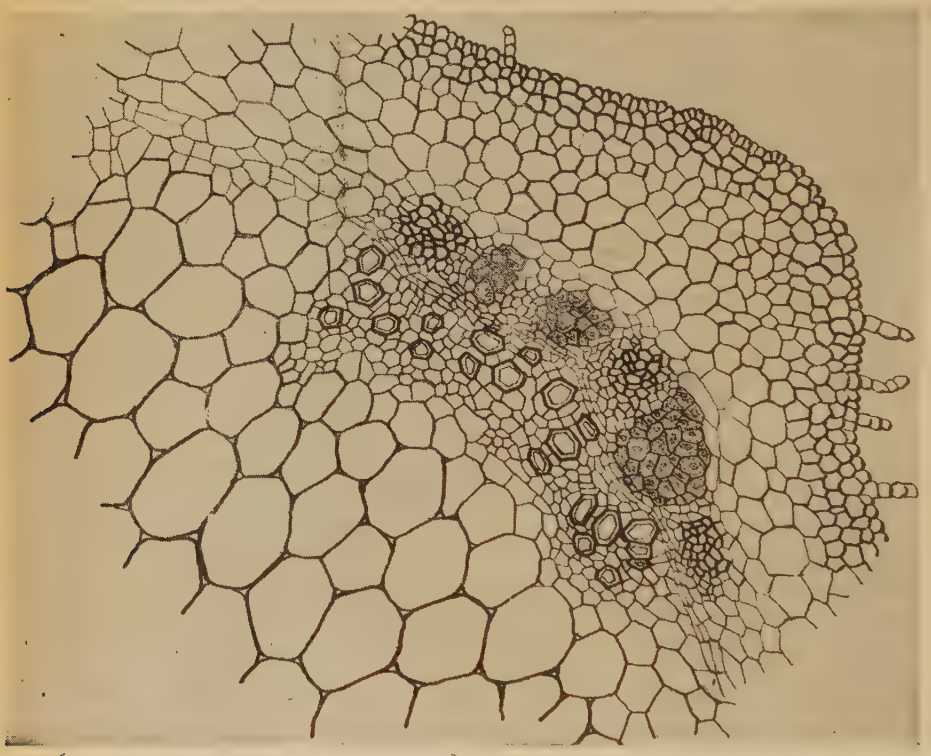


FIG. 13. — Coupe dans le 2me élément de tige, après 3 jours de traitement à l'hétéroauxine (3%) sous forme de pâte à la lanoline. On remarque 3 massifs cellulaires d'aspect méristématique formés au contact du cambium et du phloème des faisceaux. (Réduction 1/3).

Enfin, dans certaines de ces masses cellulaires l'activité mitotique diminue sans cesser complètement. Les cellules gardent leur réfringence et ce n'est parfois qu'un mois plus tard qu'elles évoluent, soit en éléments parenchymateux, soit vers la formation d'une structure de racine.

* * *

Conclusions.

Dans les conditions de milieu que nous avons adoptées pour leur culture, les plantes de *Coleus Blumei*, var *Triomphe de Luxembourg*, n'ont jamais formé de racines adventives sur leur tige, au-dessus d'un niveau bien déterminé : le 3e élément de tige.

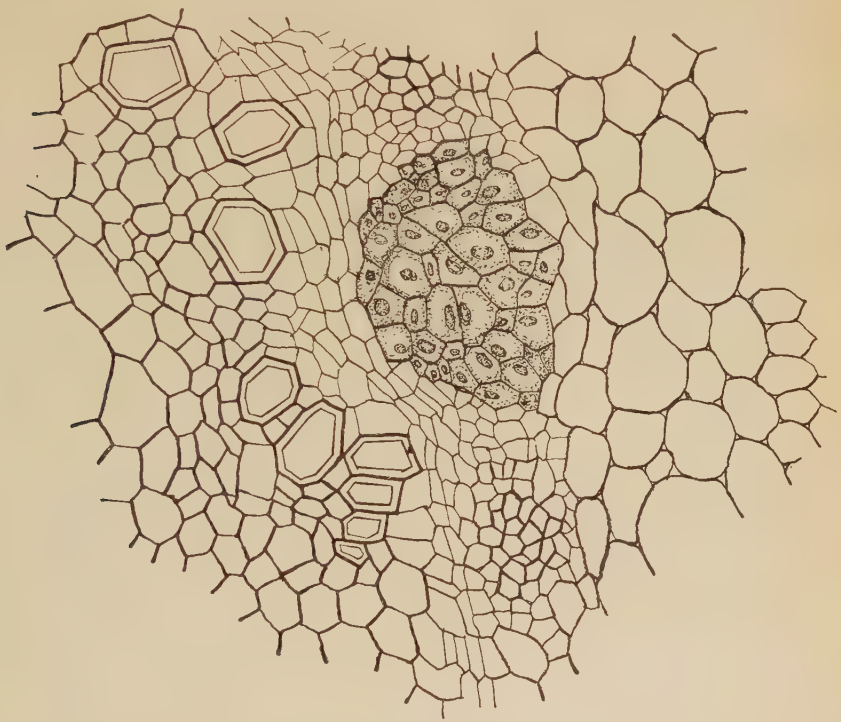


Fig. 14. — Coupe dans le 2me élément de tige traité à l'hétéroauxine (3%) et montrant à un plus fort grossissement une des masses cellulaires en voie de division représentée Fig. 13.

L'étude anatomique d'une plante normale nous a montré que chaque élément de tige possède une structure interne propre qui peut être caractérisée par le degré d'évolution du cambium. A un même niveau dans toutes les plantes cultivées dans les mêmes conditions, le cambium est au même stade de son évolution. C'est ainsi que le 3e élément de tige est caractérisé par le début de la formation d'éléments vasculaires secondaires à partir du cambium interfasciculaire. Or la limite supérieure de la formation de racines adventives coïncide précisément avec le niveau où se manifeste cette activité cambiale.

Quand on fait agir l'hétéroauxine sur un élément de tige dont le cambium n'a pas encore atteint ce stade évolutif, l'on constate non seulement que l'évolution du cam-

bium est hâtée mais encore que son activité génératrice est considérablement accrue. De plus, un phénomène qui passe souvent inaperçu dans une plante normale parce qu'il y est beaucoup moins marqué, prend à la suite de ce traitement une importance primordiale : certaines cellules bien déterminées qui ne paraissent en rien se distinguer de leurs voisines développent un potentiel considérable d'activité mitotique. Ces cellules sont au départ en contact avec le cambium et le phloème. Les mitoses aboutissent à la formation de masses cellulaires qui généralement ne s'organisent pas et prennent après un temps variable un aspect parenchymateux. Ce fait fut observé par Söding (36-1936) qui l'attribue à un défaut de différenciation dû au manque d'une quantité suffisante d'hormone de différenciation.

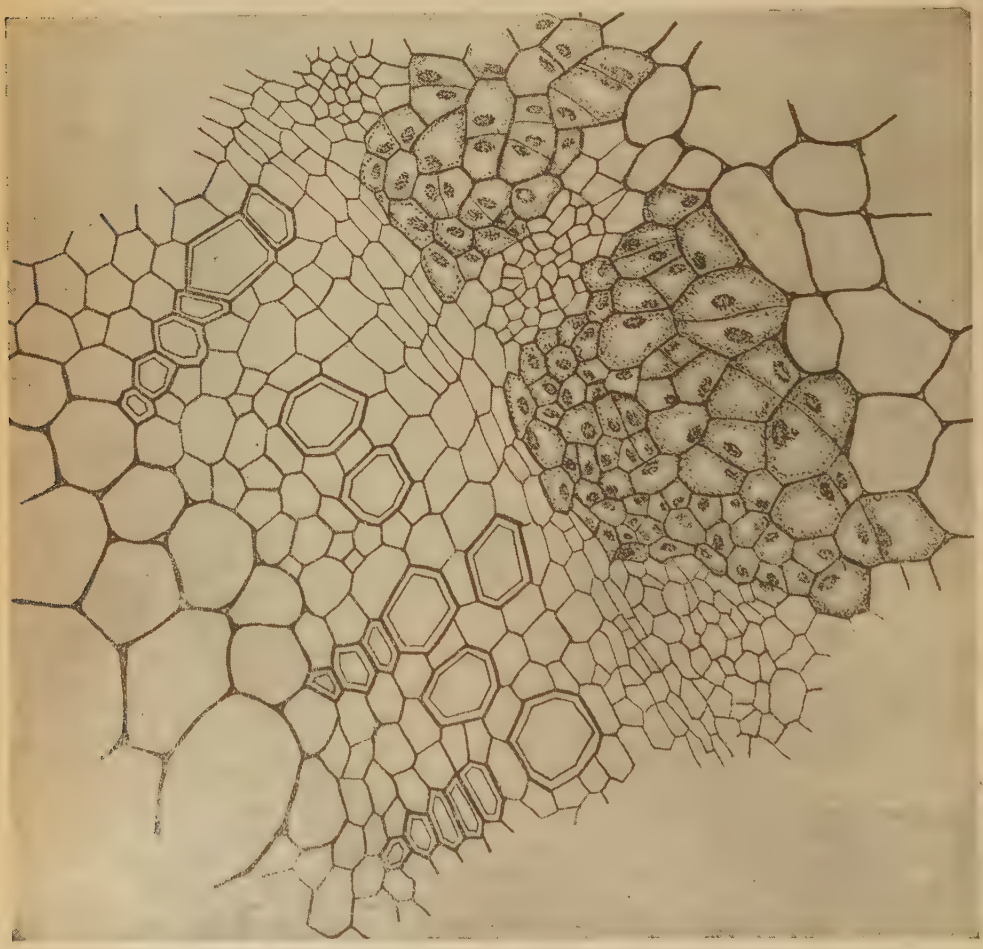


Fig. 15. — Stade plus avancé de l'évolution d'une masse cellulaire formée au contact du cambium et du liber des faisceaux à la suite d'un traitement à l'hétéroauxine. 5 jours après l'application de la pâte.

Il en est cependant qui s'organisent ultérieurement pour former une racine. Cette organisation ne se produit pas nécessairement immédiatement après la constitution des éléments d'aspect méristématique. Il arrive parfois que ce phénomène ne se manifeste que 15 jours et même un mois plus tard.

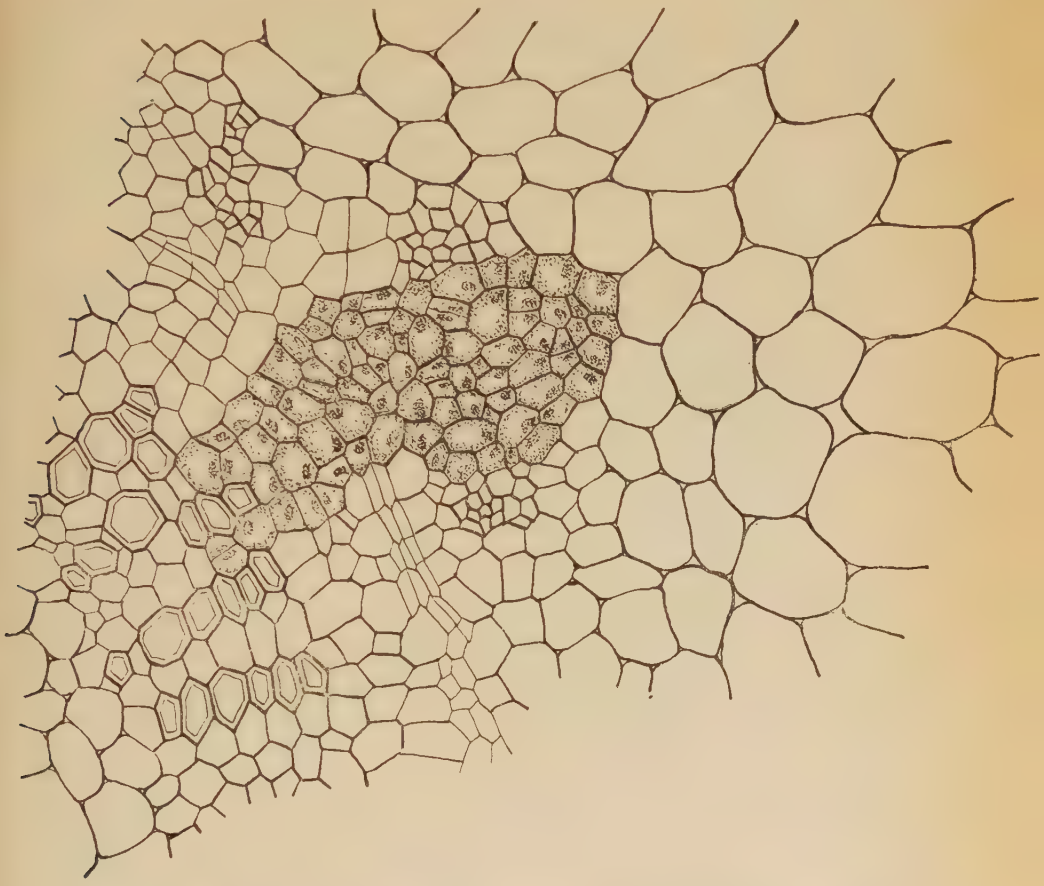


Fig. 16. — Un stade plus avancé du développement d'un primordium radiculaire, le 8me jour après le traitement à l'hétéroauxine.

Or d'après les expériences, entre autres celles de Laibach (22-1933), l'hétéroauxine sous forme de pâte est complètement détruite après 15 jours d'exposition à la lumière. Ce n'est donc pas elle qui provoque la différenciation tardive de ces masses méristématiques.

D'ailleurs, si l'on admettait qu'elle est vraiment le facteur organogénétique, comment expliquer que pendant la première quinzaine du traitement alors qu'elle est particulièrement abondante, certaines masses méristématiques, non seulement ne s'organisent pas mais prennent l'aspect parenchymateux ?

Nous sommes donc obligés de limiter le rôle de l'hétéroauxine. Cette substance provoque indubitablement la formation du cambium et augmente l'activité mitotique du cambium déjà différencié. Elle peut donc fonctionner comme l'a montré Snow (33, 34, 35 -1932-1933-1935) en « cambial growth stimulus », lorsqu'elle est appliquée à fortes concentrations (voir R. Bouillenne, *les Phytohormones* — 9, 1937).

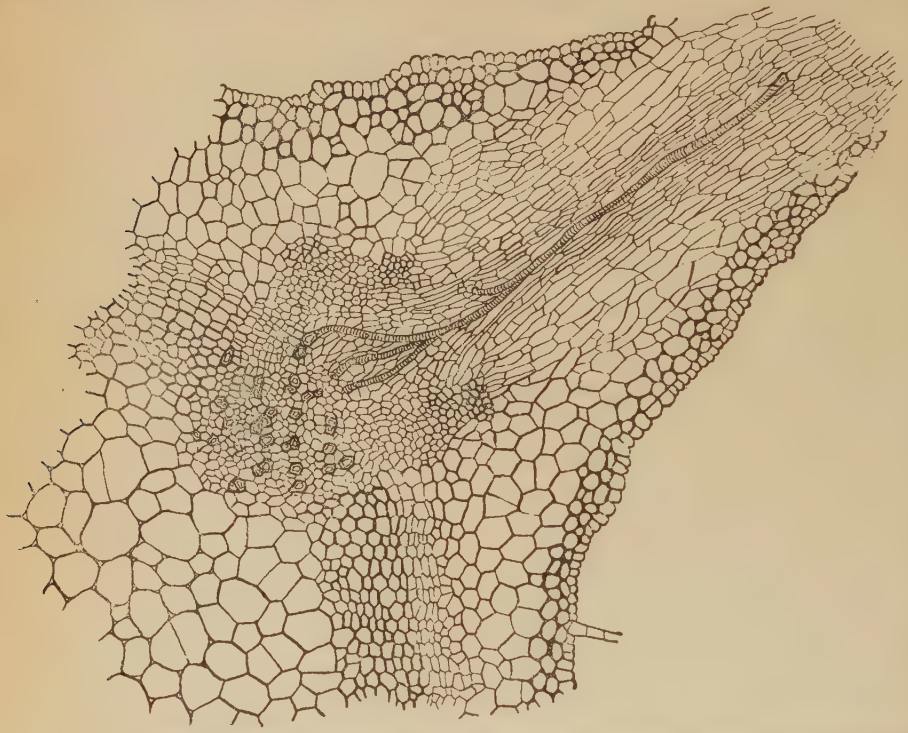


Fig. 17. — Base d'un second élément de tige, porteur d'une racine après 13 jours de traitement à l'hétéroauxine (pâte de lanoline à 3 %).

Mais à côté de cette activation du cambium, l'hétéroauxine peut également provoquer des multiplications cellulaires très localisées au sein de tissus peu évolués tels que le phloème récemment constitué, les rayons médullaires et le pseudo-péricycle, dans leurs parties en contact avec le phloème actif. Son action sur ces tissus n'est pas générale mais restreinte à certaines cellules. On ne connaît d'ailleurs pas encore les causes de la réactivité particulière de ces cellules.

L'hypothèse de travail que l'on tire nécessairement de pareils résultats est qu'il existe chez les plantes comme chez les animaux un ou plusieurs facteurs encore inconnus, dont le rôle est d'orienter la différenciation cellulaire vers la formation d'un organe à structures déterminées. L'absence ou l'épuisement de ce facteur dans un organe se traduirait par la formation d'une masse parenchymateuse ou par le fait qu'un cal ne s'organiserait pas en structure différenciée. Ce défaut d'organi-

sation fut observé par Delarge sur *Crinum* (1935) et par R. Bouillenne et M. Walrand sur les hypocotyles inanitiés d'*Impatiens Balsamina* (1938).

* * *

Nous avons tenu à confirmer cette assertion importante une nouvelle fois par l'observation anatomique d'un matériel qui nous a été fourni par Madame M. Bouillenne-Walrand. (hypocotyles d'*Impatiens Balsamina*). Ces hypocotyles constituent le matériel généralement utilisé comme « root-test » dans les travaux sur les facteurs de néoformation radiculaires à l'Institut de Botanique de Liège. Ils sont dépourvus expérimentalement de cotylédons et de racines ; ils ont subi un processus d'inanition.

Lorsque ces hypocotyles sont ensuite cultivés à l'obscurité, dans une solution de saccharose à 1,5 % contenant 1 mgr % d'hétéroauxine, des racines apparaissent le long de l'hypocotyle tandis que le sommet, qui n'en porte jamais peut s'épaissir considérablement et prendre la forme d'une massue. Nous avons examiné des coupes transversales dans ce sommet épaissi. Les fig. 18, 19, 20 représentent trois de ces coupes. La première est faite à l'endroit où l'hypocotyle commence à s'épaissir. On remarque aisément dans les intervalles qui séparent les différents pôles de protoxylème, de type centripète radiculaire, sous les massifs de phloème, les divisions cellulaires qui mèneront à la formation du cambium. De plus, çà et là, et particulièrement au voisinage des éléments vasculaires, certaines cellules sont divisées abondamment.

Ces nouveaux éléments ne se sont pas encore individualisés, si bien que les contours de la cellule-mère restent nettement marqués.

La fig. 19, grâce au grandissement plus fort, permet de se faire une idée plus précise de l'importance de cette activité mitotique. Cette coupe passe approximativement par le centre de l'espèce de massue qu'est devenue l'extrémité de l'hypocotyle.

Dans ces deux coupes, l'endoderme et le péricycle sont encore visibles. L'activité mitotique est limitée au cylindre central. On ne constate aucune différenciation cellulaire.

La fig. 20 est celle d'une coupe faite à l'extrémité supérieure de l'hypocotyle. L'endoderme et le péricycle ont complètement disparu. Les multiplications cellulaires sont beaucoup plus nombreuses et elles se sont étendues au parenchyme. Certaines des cellules ainsi formées se sont différenciées en trachées mais les éléments sont dispersés et n'ont aucune liaison avec le xylème de l'hypocotyle. Il y a donc eu un début d'organisation mais cette organisation ne s'est pas poursuivie normalement. De plus R. et M. Bouillenne (11,1937) ont montré que ce sommet n'a jamais présenté d'organogénèse quelconque même après des mois. Ce défaut d'organisation n'est pas dû au manque d'hétéroauxine, car le milieu est renouvelé chaque jour. Ce n'est pas le manque de carbohydrate puisque la solution en contient abondamment. Enfin ce n'est pas le manque d'azote car, si on ajoute des acides aminés, l'épaississement se produit également sans différenciation ; il est même moins marqué.

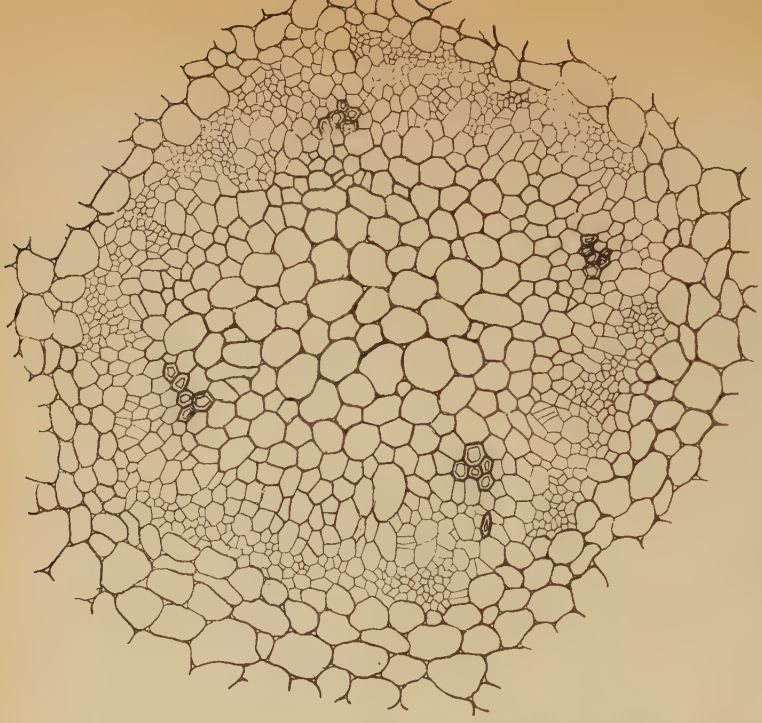


Fig. 18. — Coupe faite à la base de l'épaississement qui s'est formé au sommet d'un hypocotyle amputé de ses cotylédons et inanitié de *Impatiens Balsamina* ; il a été cultivé pendant 27 jours en solution de saccharose à 1,5 % contenant 1 mgr % d'hétéroauxine. Noter le début de la différenciation du procambium en cambium typique. On remarque certaines divisions cellulaires dans le parenchyme au voisinage des pôles de xylème et du péricycle.

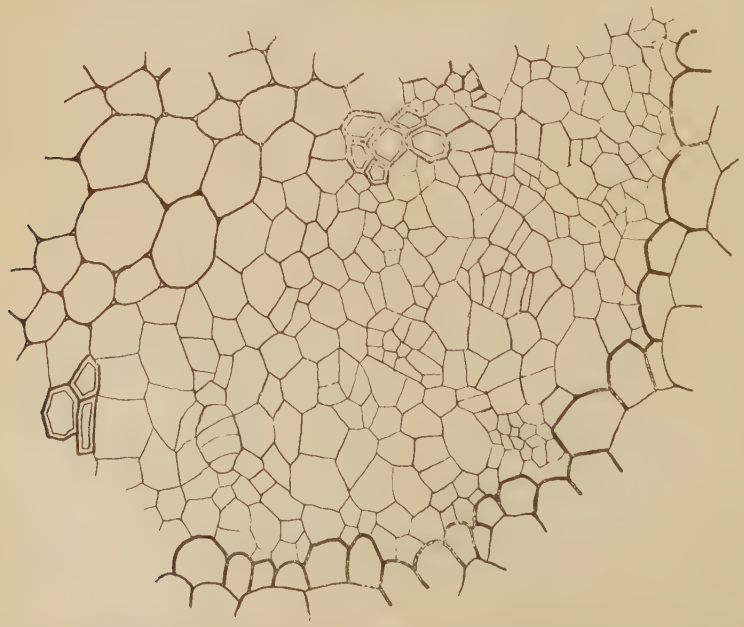


Fig. 19. — Coupe passant par le centre du même épaississement du sommet de l'hypocotyle de *Impatiens Balsamnia*. Remarquer l'abondance des multiplications cellulaires et leur curieuse disposition. Les limites des cellules-mères se distinguent encore nettement.

Il faut donc admettre qu'il existe chez les plantes comme chez les animaux un ou plusieurs facteurs encore inconnus dont le rôle est d'orienter la différenciation cellulaire vers la formation d'un organe à structure bien déterminée. L'absence de ce facteur se traduit par la formation d'une masse parenchymateuse ou d'un cal chez une plante activée par un moyen quelconque. Quel est ce facteur ? Est-ce une substance ou bien un agent externe ? Est-ce un constituant normal et invariable du protoplasme ou bien est-il fabriqué par la plante ? Dans ce cas, quel est l'organe qui le produit et quels sont les facteurs qui interviennent dans son élaboration ?

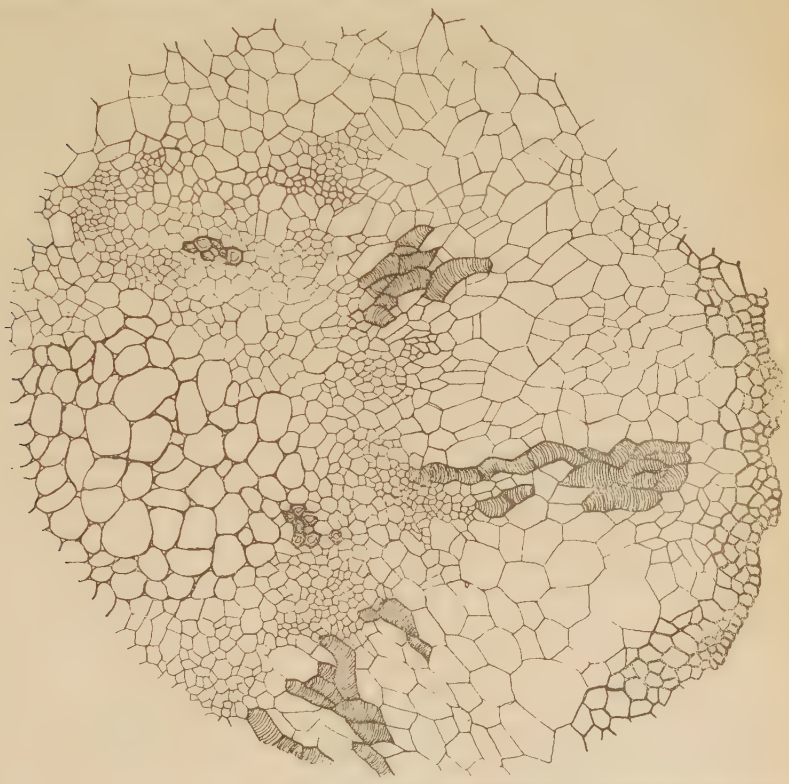


Fig. 20. — Coupe faite au sommet de cet épaississement. La différenciation de certaines cellules en trachées est intéressante ; d'autant plus que l'on a constaté que le sommet de l'hypocotyle hypertrophié n'a jamais montré la capacité de bourgeonner, même après plusieurs semaines de culture.

Toutes ces questions sont autant de problèmes que seule une étude physiologique peut éclairer.

Les recherches physiologiques dont nous donnons le détail dans les pages suivantes constituent, pour nous, une première étape dans l'étude de cet important problème.

ÉTUDE PHYSIOLOGIQUE

INTRODUCTION.

Au cours de nos recherches anatomiques, nous avons été amené à conclure que le rôle de l'hétéroauxine se limite à celui d'un activant du cambium et des multiplications cellulaires voisines. Cette substance n'intervient pas directement dans l'organisation ultérieure en structures radiculaires des massifs cellulaires d'aspect méristématique naissant normalement au sein du phloème et des rayons médullaires ; mais apparaissant en plus grande abondance grâce à son action.

Il devrait donc exister au moins un facteur dont le rôle consisterait à orienter l'évolution de ces masses méristématiques vers la formation d'une racine et non d'un bourgeon.

Les expériences de Cooper (15, 16) (1935-1938), de Went (45, 46) (1938), de R. et M. Bouillenne (12) (1938) et d'autres chercheurs ont démontré que ce facteur est substantiel. Ceci implique immédiatement une première question : cette substance est-elle un constituant normal et invariable du protoplasme ou bien est-elle fabriquée dans certains organes de la plante et transloquée ensuite vers les régions où se manifestent les néoformations de racines ?

C'est ce problème que nous tentons d'élucider au cours de recherches exposées ci-après.

* * *

I. Technique.

L'observation de notre matériel, *Coleus Blumei* Benth., var. *Triomphe de Luxembourg* (hybride), nous a montré, dans nos conditions expérimentales de lumière, température et humidité de l'air, que le premier et le deuxième « éléments de tige » d'une bouture normale ayant au moins 6 éléments, ne produisent jamais de racines, alors que le troisième et les suivants sont capables d'en former. Par conséquent, pour avoir la certitude d'être en présence d'un phénomène de néoformation de racines et non du développement de méristèmes radiculaires préformés ou sur le point de se former spontanément, nous n'avons d'autres ressources que de tenter des expériences sur le second ou sur le premier « élément de tige ».

Nous avons utilisé des boutures de même origine que celle de notre étude anatomique : quatre plantes, cultivées en pleine terre, choisies *parfaitement saines et comparables, spécialement au point de vue du nombre de racines formées au cours du bouturage.* Ces quatre plantes ont été multipliées par bouturages successifs en terre

de bruyère, comme il a été dit plus haut ; elles nous ont donné, au cours de l'année, 1938, plus de mille individus sains et vigoureux.

Chaque bouture bien enracinée consiste en une tige d'environ 15 cm. de hauteur comportant 6 éléments, y compris l'élément terminal constitué des nœuds du bourgeons et du méristème. Chaque élément, sauf l'élément terminal — le n° 1 — mesure environ 2.5 à 3 cm. et porte une paire de feuilles et 2 bourgeons axillaires. Nous préparons généralement le matériel comme suit : les feuilles et les bourgeons des 3e, 4e, 5e et 6e éléments sont enlevés au scalpel. Le premier élément est éliminé et dans ce but il est sectionné à environ 2 mm. au dessus de l'insertion de la 2e paire de feuilles. Les bourgeons axillaires du 2e élément sont également enlevés. Nous obtenons ainsi une bouture dont la Fig. 21 donne la représentation.

Fig. 21. — Bouture préparée, comprenant 6 éléments de tige et 2 feuilles sur le 2me élément sommet enlevé, amputation des bourgeons axillaires aux 2me, 3me, 4me, 5me, 6me éléments et des feuilles des 3me, 4me, 5me et 6me éléments).

Au moment de l'expérience, selon les cas, les boutures sont repiquées dans 2 milieux : 1° sable du Rhin arrosé chaque jour 2 fois d'une solution de Knop.

2° un milieu liquide : la solution de Knop. Ce milieu est renouvelé tous les deux jours.

Les boutures séjournent pendant 8 jours à la lumière solaire dans une couche construite dans une serre, spécialement aménagée à cet effet (voir technique bouturage, p. 151).

Ce laps de temps est nécessaire au rétablissement de l'équilibre métabolique altéré par les ablations subies.

Nos recherches en lumière solaire se poursuivent dans les mêmes conditions expérimentales que celles précisées ici. Pour les expériences faites à l'obscurité complète nous disposons d'une cave étanche aménagée de telle sorte que nous avons pu y créer et y maintenir des conditions de température et d'humidité atmosphérique, identiques à celles de la couche.

En ce qui concerne l'expérimentation par l'hétéroauxine, les méthodes et les concentrations varient selon l'endroit sur lequel cette substance doit être appliquée. Quand le traitement est fait par la base de la bouture, nous employons une solution d'hétéroauxine d'une concentration de 2 milligr. pour mille dans l'eau distillée. La durée du traitement varie selon les expériences. Elle sera précisée en temps utile.

Quand l'application doit se faire sur le deuxième élément de tige, nous employons la méthode des pâtes à la lanoline préconisée par Laibach (22, 23, 24, 25) (1935). Seule cette méthode permet une localication suffisante du traitement.

Dans une expérience préliminaire nous avons déterminé la concentration optimale de l'hétéroauxine en pâte.

Nous avons noté que la pâte à 3 % d'hétéroauxine, utilisée précédemment par Harrisson (21) (1938) sur *Iresine*, donne les résultats les plus rapides et les plus constants, sans nuire à la santé de la plante. C'est donc cette concentration que nous avons adoptée dans les expérimentations ultérieures.

Cette pâte à 3 % d'hétéroauxine est obtenue de la manière suivante. Nous pesons 60 milligrammes d'acide indole-3-acétique de Merck, dans un verre de montre. Nous versons ensuite 1 cm^3 d'eau distillée. Une partie de l'hétéroauxine se dissout, le reste surnage. Nous ajoutons alors 1 cm^3 de lanoline préalablement chauffée à 50° C. Nous mêlons soigneusement au moyen d'un agitateur de verre, pendant une dizaine de minutes. La solution et la lanoline forment alors une émulsion d'un blanc jaunâtre suffisamment consistante pour être appliquée sur une tige verticale sans couler le long de celle-ci, mais aussi sans nécessiter, lors de son application, une pression susceptible de blesser les tissus.

Cette pâte est appliquée en anneau sur le 2e élément de tige, à 2 ou 3 millimètres au-dessous de l'insertion des feuilles, ce qui présente le grand avantage d'éviter la courbure épinastique très accusée que provoque toujours l'application unilatérale de la pâte.

Au cours de nos recherches nous avons été amené à préciser le rôle joué par des facteurs tels que les carbohydrates et les acides aminés dans la néoformation des

Photo Sauveur.

FIG. 22. — Boutures, constituées de 6 éléments de tige de *Coleus Blumei*, faites à la lumière, sous couche, sur sable du Rhin : à dr. témoin ; à g. traitement du 3e élément, à la pâte de lanoline et hétéroauxine (3%), unilatéralement.

Photo Sauveur.

FIG. 23.— Bouture traitée par la pâte à hétéroauxine (3%) sur le 3e élément. Après 14 jours, prolifération intense des tissus de la tige à l'endroit d'application, formant un *pseudo-cal*, qui en effet se révèle anatomiquement comme constitué de racines, serrées les unes contre les autres voire soudées, à l'endroit de l'application de la pâte.

Photo Sauveur.

Fig. 24. — Bouture de la Fig. 23, après 20 jours. La présence de racines est indiscutable. Ces racines se mettent à pousser normalement dès qu'elles ne sont plus en contact avec la pâte à hétéroauxine.

racines. Les concentrations utilisées sont 1,5 % ou 3 % pour le saccharose et 0.002 % pour les acides aminés.

Nous avons utilisé diverses méthodes pour l'application de ces substances. Nous les détaillerons pour chaque expérience.

Chacun des essais dont nous donnons les résultats dans ce travail a été répété plusieurs fois. Nous avons toujours obtenu des résultats du même ordre. L'ensemble de nos recherches a nécessité l'utilisation de plus d'un millier de boutures

II. Recherches préliminaires.

Nous avons, en appliquant l'hétéroauxine sur le 3e élément de tige, réalisé une expérience semblable à celle faite par Laibach (22 et suiv.) en 1935 ; mais nous avons utilisé de l'hétéroauxine en plus forte concentration.

Nous avons préparé des plantes enracinées dans du sable humide. Elles comportent toutes 6 éléments de tige dont les 3 premiers ont été laissés intacts et les 3 derniers ont été expérimentalement dépourvus de leurs feuilles et de leurs bourgeons axillaires.

Ces plantes sont cultivées à la lumière solaire, sous couche, dans les conditions précisées plus haut (Technique). L'air de la couche est renouvelé chaque jour par une aération d'une heure. Les plantes sont arrosées quotidiennement, à la même heure, à l'eau de la distribution.

Les plantes sont partagées en 3 séries.

1re *série :* Les plantes ne subissent aucun traitement.

2e *série :* Chaque plante reçoit sur le 3e élément de tige, une pâte constituée uniquement de lanoline pure et d'eau distillée en parties égales,

3e *série :* Chaque plante subit un traitement à l'hétéroauxine. Ce traitement est administré sur le 3e élément de tige à 2 ou 3 mm. au-dessous du niveau de l'insertion de la 3e paire de feuilles, sur une des 2 faces sans feuille. La pâte est appliquée en une couche de 6 à 5 mm. de longueur et de 2 mm. d'épaisseur sur toute la largeur de cette face.

Cette expérience commencée le 20 janvier 1938 est terminée le 20 février.

Après un mois d'expérience les témoins ont formé 2 nouveaux éléments de tige. Les plantes traitées à l'hétéroauxine n'en ont formé qu'un (voir Fig. 22).

Toutes les plantes, témoins et sujets traités à l'hétéroauxine, portent des racines adventives sur les 4e, 5e et 6e éléments de tige.

Toutes les plantes traitées présentent des racines et des modifications importantes au niveau du 3e élément de tige — alors que 2 plantes témoins seulement sur 20, y ont formé une racine après 1 mois d'expérience. Une courbure de la tige apparaît au niveau de la pâte déjà après quelques heures. Ce phénomène d'épinastie s'accentue rapidement jusqu'à atteindre après 3 jours, un angle de 90°. Il se produit dans la direction opposée à la face traitée.

Les premières néoformations radiculaires pointent 6 jours après l'application

de l'hétéroauxine, elles sont surtout fréquentes le long des arêtes, au contact de la pâte. Celle-ci a pris une légère coloration orangée qui s'accentuera dans la suite. Le dixième jour, 13 racines en moyenne sont nettement visibles.

Le 14e jour une énorme boursoufflure se montre sur les plantes traitées, à l'endroit où nous avons appliqué la pâte. De prime abord, elle pourrait être prise pour un cal. A la loupe nous distinguons cependant qu'elle est constituée par des racines serrées les unes contre les autres et même soudées (voir Fig. 23).

Après 18 à 20 jours, ces racines présentent un développement individuel normal (voir Fig. 24).

Après un mois de traitement, le 3e élément de tige porte en moyenne 26 racines parfaitement constituées d'une longueur maximale d'environ 10 cm.

L'étude anatomique montre, après 3 jours de traitement, une structure comparable à celle de la Fig. 13 ; après 5 jours, voir celle de la Fig. 15.

Après 18 à 20 jours, les *pseudo-cals* révèlent, en coupe, que chacune des racines a son organisation interne propre et typique ; les parenchymes corticaux sont soudés, mais la soudure n'intéresse que ce tissu ; le parenchyme cortical est constitué de cellules en voie de division active tangentiellement à la circonférence de la racine. Il est anormalement épaissi, surtout dans sa partie qui est en contact avec la pâte. Les racines dont l'extrémité a réussi à sortir de la pâte et n'est plus en contact avec l'hétéroauxine, poursuivent un développement à structure normale. Leur croissance n'apparaît plus inhibée et leur allongement est rapide.

En résumé :

L'hétéroauxine à 3 % appliquée sous forme de pâte à la lanoline, sur le 3e élément de tige d'une bouture enracinée de *Coleus* qui en compte 6 en tout :

1° retarde la formation d'éléments de tige nouveaux (le témoin forme 2 éléments en un mois, le sujet traité n'en forme qu'un).

2° provoque après 6 jours l'apparition de racines sur le 3e élément qui n'en forme normalement que très peu ou pas du tout et dans tous les cas seulement après un long temps.

3° détermine à partir du 14e jour, à l'endroit où elle est appliquée, la formation de ce qui est un « pseudo-cal », constitué par l'épaississement excessif des parenchymes corticaux d'un ensemble de primordium radiculaires, parenchymes qui peuvent être soudés les uns aux autres.

4° arrête momentanément le développement normal de ces germes radiculaires.

Cet arrêt ou plutôt ce ralentissement considérable de la croissance des jeunes racines se manifeste tant que leur méristème est en contact avec l'hétéroauxine. Dès que celui-ci a réussi à percer la couche de pâte, son développement redevient normal.

Donc, le contact de l'hétéroauxine, après avoir favorisé la formation de nombreux méristèmes radiculaires inhibe leur développement, ce qui est bien connu. De plus, elle produit dans l'organisation de leur structure interne de telles pertur-

bations que les primordium radiculaires se soudent entre eux et que l'ensemble qu'ils constituent prend l'aspect d'un pseudo-cal.

Remarques.

Nous avons montré dans notre étude anatomique que dans la plante normale, les divers éléments font apparaître spontanément et progressivement de bas en haut des masses cellulaires en voie de division active. Ce phénomène est considérablement accentué par l'application d'hétéroauxine.

Ces masses en se développant peuvent donner naissance à des primordium radiculaires. En effet, dans nos essais à la lumière, la différenciation de la structure des racines se réalise généralement. Elle peut cependant ne pas se produire, comme nous l'avons dit. Néanmoins dans certaines conditions encore inconnues, elles peuvent ou bien rester dans cet état, ou bien après un temps d'arrêt plus ou moins long donner naissance à des racines.

Dans ces conditions, la question de savoir si les protubérances sont réellement un cal constitué de tissus conjonctifs qui ne se différencieront pas ou bien s'il est un pseudo-cal, avec structures de racines ébauchées, ne peut être tranchée que par une étude anatomique comme celle que nous avons faite.

Signalons que Laibach dans ses expériences de 1935 (22 et suiv.) a lui aussi constaté la formation de protubérances dont certaines n'évoluent pas en racines. Malheureusement, il n'en a pas fait l'anatomie de sorte qu'il est impossible de porter un jugement définitif sur la vraie nature de ses masses.

Dans notre expérience il n'y a pas eu formation d'un cal typique. L'organisation de masses méristématiques en structures de racines s'est produite dès leur apparition. Les primordium radiculaires se sont développés normalement jusqu'à leur arrivée au contact de l'hétéroauxine. A ce moment la division cellulaire considérablement accélérée a produit des déformations par épaississement accentué des pointes radiculaires.

Delarge (1939, 18) a constaté ce phénomène sur les méristèmes de racines cultivées in-vitro.

De même que Laibach (l. c.) (1935) a mis en évidence que la formation d'un cal ne précède pas invariablement l'apparition des racines, de même la prolifération que nous avons observée sur la plupart des plantes traitées à l'hétéroauxine au cours de cette expérience n'est pas un phénomène constant.

Dans une expérience analogue à celle-ci, réalisée en fin mars-avril, c'est-à-dire un mois après, une légère boursoufflure seulement s'est manifestée sous la pâte, le 14^{e} jour, mais n'a pas pris l'extension de celle que nous avons observée en janvier-février. Elle avait produit, dès le 16^{e} jour une touffe de racines. A partir de cette date, la présence d'une boursoufflure considérable n'a plus été constatée sur notre matériel jusqu'à la fin du mois d'août.

Il serait intéressant de comparer les dates auxquelles ont été réalisées ces premières expériences et celles où Laibach (l. c.) (1935) a travaillé.

Il ressort de nos essais que la formation des cals ou des pseudo-cals est d'autant moins fréquente que l'expérimentation a lieu plus avant dans la bonne saison. La température et l'humidité de l'air ne peuvent intervenir puisque les plantes sont cultivées dans des conditions expérimentales constantes. Il semble que la variation saisonnière de la lumière puisse être considérée comme un facteur important dans cette question.

Il conviendrait donc d'étudier l'influence de cette variation (intensité et qualité).

De plus, l'état physiologique dans lequel se trouvent des tissus au moment où ils subissent le traitement à l'hétéroauxine nous paraît avoir une signification digne d'intérêt. En effet, normalement le 3e segment utilisé passe progressivement à l'état du 4e, puis du 5e, etc., à mesure que de nouveaux segments se constituent au sommet de la tige et que ses tissus vieillissent. Or ce 3e segment qui ne forme que très peu de racines lorsqu'il est le 3e, en fait apparaître normalement beaucoup lorsqu'il devient le 6e.

Il est bien évident que dans ces conditions, *l'action de l'hétéroauxine ne peut être autre que celle de hâter un phénomène qui se produirait spontanément plus tard dans les mêmes tissus.* Cette question des âges physiologiques caractéristiques successifs par lesquels passe un végétal ou un tissu a été mise en évidence par les travaux de nombreux chercheurs parmi lesquels Lysenko (28, 1932, 1934), Van der Lek (26, 27, 1925-1930), Rogenhofer (32, 1936), R. Bouillenne (7, 1928), Bouillenne et Demaret (10, 1935).

A la suite de ces remarques nous avons décidé :

1° de prendre dorénavant non plus le 3e élément mais bien le 2e élément de tige afin de traiter des tissus qui soient d'âge physiologique plus jeune et qui soient plus éloignés des conditions produisant normalement des formations de racines.

2° de tenter de préciser les facteurs dépendant de la lumière, qui sont en rapport soit avec la formation des cals soit avec la différenciation des racines.

Les facteurs dépendant de la lumière doivent être envisagés sous plusieurs aspects parmi lesquels nous distinguerons d'une part l'influence du nombre de feuilles et d'autre part l'influence de l'intensité de lumière frappant ces feuilles. Dans notre programme nous nous attacherons : 1° à examiner le rôle de la présence de 2, 1 et 0 feuilles ; 2° à comparer les phénomènes qui se produisent à la lumière solaire et à l'obscurité.

III. Influence du nombre des feuilles.

Nous prélevons sur les plantes-mères standardisées 42 boutures comprenant 6 éléments. Nous leur faisons subir le traitement préalable que voici (voir fig. 21) :

1° ablation du 1er élément,

2° ablation de tous les bourgeons axillaires,

3° ablation de toutes les feuilles, sauf la paire du 2e élément.

Ces pousses, toutes pareilles, sont plantées dans du sable du Rhin, préparé comme il a été indiqué plus haut.

Elles sont cultivées en lumière solaire, sous couche. Nos expériences ne commencent que 6 jours après ce traitement, alors que toutes les boutures sont déjà enracinées et que l'on peut considérer comme rétabli leur équilibre métabolique.

Avec le matériel préparé, nous formons des séries qui nous permettront de comparer l'action de l'hétéroauxine sur des plantes ayant 2 feuilles, 1 feuille et 0 feuille (séries 1, 2, 3).

La pâte d'hétéroauxine (3 % dans lanoline) est appliquée en anneau pour éviter l'épinastie des tiges, sur le 2e élément de tige, à 3 mm. environ sous l'insertion des feuilles, en une couche de 5 à 6 mm. de haut et de 2 mm. d'épaisseur.

Ensuite, afin de faire, dans le rôle des feuilles, la part qui revient à la photosynthèse des carbohydrates et celle qui pourrait être dûe à d'autres facteurs, en plus de l'hétéroauxine, nous administrons aux plantes n'ayant qu'une feuille ou n'en possédant plus du tout, une solution de saccharose purissime à 1,5 % (séries 4 et 5). Ce traitement se fait par la section du pétiole de l'une ou des 2 feuilles du 2me élément au moyen du dispositif suivant. (voir Fig. 25).

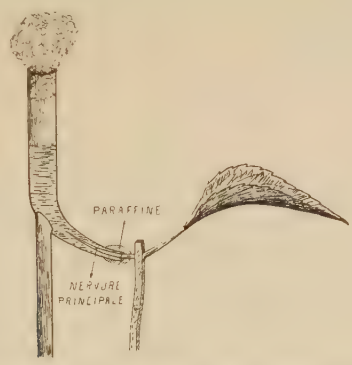


Fig. 25. — Dispositif utilisé en vue de donner aux boutures traitées à l'hétéroauxine et privées de une ou de deux feuilles un appoint de saccharose purissime.

Un tube de verre de 3 cm. de section est coudé et effilé à un bout afin d'obtenir un orifice de 2 à 3 mm. de diamètre à l'extrémité de la branche horizontale.

Ce tube est soudé à un support également en verre, celui-ci est planté dans le sable du pot qui contient la bouture enracinée.

On introduit dans l'orifice étroit du tube la nervure médiane et le pétiole d'une feuille dont on a enlevé le limbe. L'orifice est ensuite bouché par une couche de paraffine fondant à 32° C. ce qui assure l'étanchéité du dispositif.

La partie large du tube constitue le réservoir dans lequel on verse avec toutes les précautions d'asepsie nécessaires 5 cm^3 de solution de saccharose renouvelé tous les 2 jours.

L'expérience est réalisée à la lumière solaire, sous couche. Elle commence le 15 mars 1938 et se termine le 21 avril. Nous organisons donc les séries suivantes (toutes traitées à l'hétéroauxine sur le 2me élément).

1re *série* : 9 boutures conservant 2 feuilles.
2e *série* : 9 boutures conservant 1 feuille.
3e *série* : 6 boutures sans feuille.
4e *série* : 9 boutures conservant 1 feuille et recevant du saccharose par la section du pétiole de l'autre feuille (fig. 25 et fig. 29).
5e *série* : 9 boutures sans feuille, mais recevant du saccharose par la section du pétiole des 2 feuilles du 2e élément.

Chaque série compte 3 témoins recevant sur le 2e élément un anneau de pâte de lanoline hydratée.

Dans ces conditions, à la fin de l'expérience, les témoins n'ont pas formé de racine ni sur le 2e, ni sur le 3e élément de tige.

Les plantes traitées nous donnent les résultats exposés au tableau I et à la Fig. 31.

TABLEAU I.

Action de l'hétéroauxine (pâte à 3 %), par rapport au nombre de feuilles avec ou sans addition de saccharose purissime 1,5 %.

Série	Boutures standardisées de 6 éléments de tige munies de :	Nombre de racines					
		Témoins	Après 9 jours	Témoins	Après 14 jours	Témoins	Après 21 jours.
I.	2 feuilles, moyenne sur 5	0	55 (7) { 49 / 64	0	68 (70) { 49 / 79	0	87(78) { 65 / ± 6,2 / 115
II.	1 feuille, moyenne sur 6	0	52 (6) { 40 / 65	0	59 (60) { 43 / 74	0	66(75) { 43 / ± 5,2 / 83
III.	0 feuille, moyenne sur 3	0	49 (6) { 47 / 50	0	50 (10) { 47 / 50	0	54(15) { 47 / ± 3 / 59
IV.	1 feuille + saccharose 1,5 %, moyenne sur 4.	0	64(79) { 57 / 71		80 (65) { 70 / 94	0	97(70) { 79 / ± 7,4 / 119
V.	0 feuille + saccharose 1,5 %, moyenne sur 5.	0	56 (4) { 49 / 63	0	68 (15) { 59 / 77	0	72(20) { 59 / ± 3 / 82

(Les chiffres compris dans les accolades concernent les nombres minimum et maximum de racines. Les chiffres entre parenthèses indiquent la longueur en mm. de la plus longue racine qui était formée sur chaque individu. Dans chaque série, nous avons écarté les boutures qui ont souffert de la manipulation).

Photo Sauveur.

FIG. 26. — Bouture de *Coleus*, ayant conservé les 2 feuilles de l'élément 2, traitée à l'hétéroauxine sur cet élément : 87 racines en fin d'expérience.

Photo Sauveur.

FIG. 27. — Bouture de *Coleus*, ayant conservé une seule feuille de la paire de l'élément 2, traitée à l'hétéroauxine : 66 racines en fin d'expérience.

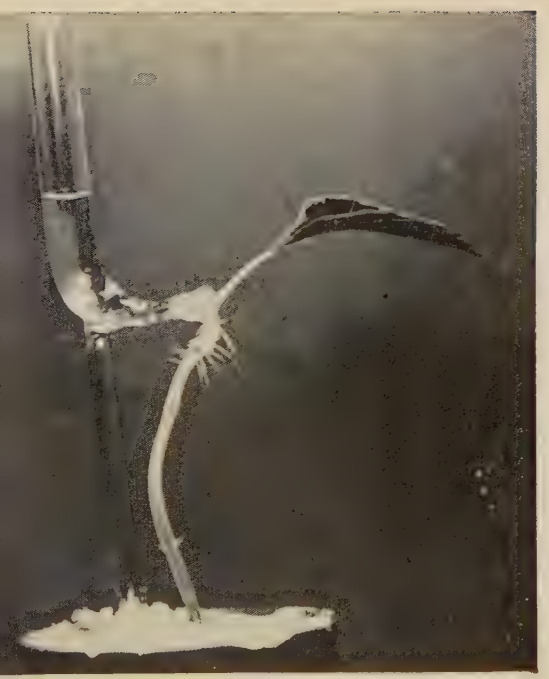


Photo Sauveur.

IG. 29. — Bouture de *Coleus* traitée à l'hétéroauxine, nt conservé une seule feuille de la paire de l'élément a feuille supprimée est remplacée par un dispositif ant diffuser par son pétiole une solution de saccha- purissime à 1,5 %.

Photo Sauveur.

FIG. 28. — Bouture de Coleus n'ayant conservé aucune feuille, traitée à l'hétéro-auxine : 54 racines en fin d'expérience.

Photo Sauveur.

FIG. 30. — Bouture de *Coleus*, traitée à l'hétéroauxine. Les 2 feuilles de l'élément 2 sont supprimées. Elles sont remplacées chacune par un dispositif, comme Fig. 29.

Cette expérience nous montre que le nombre de racines formées par l'action de l'hétéroauxine sur le 2e élément d'une bouture enracinée dépend du nombre de feuilles présentes sur la tige et d'un appoint de saccharose.

Le rôle du nombre des feuilles est démontré clairement après 21 jours par les résultats (2 feuilles = 87 racines) (1 feuille = 66 racines) et (0 feuille = 54 racines) (fig. 26, 27, 28).

Cependant, après 9 jours, on observe déjà un assez grand nombre de racines dans ces trois cas précités. Ce qui est important, à notre avis, c'est que les racines sont à peu près également nombreuses (2 feuilles = 55 racines), (1 feuille = 52 racines) et (0 feuille = 49 racines).

Donc au début de l'expérience le nombre des feuilles laissées sur la tige n'a pas d'influence appréciable sur le nombre de racines, en d'autres termes l'action de l'hétéroauxine est très approximativement la même partout. Mais après 9 jours, d'un côté le nombre des racines n'augmente plus sensiblement dans la série sans feuille ; de l'autre, cette augmentation est nette dans les deux autres séries et se marque à l'avantage de la série à deux feuilles qui, au 21e jour, a produit en moyenne 21 racines de plus que la série à une seule feuille et celle-ci 12 de plus que la série sans feuille.

L'explication de ce comportement est simple.

Pendant les 9 premiers jours les plantes de chacune des séries utilisent, sous l'action de l'hétéroauxine, le bagage des diverses substances que contenaient les tiges au départ de l'expérience. Ces boutures standardisées ont au début approximativement les mêmes quantités de substances actives dans la rhizogenèse. *Mais dès que ces substances ont été utilisées, la tige réagit à l'hétéroauxine au prorata de ce qu'elle reçoit des feuilles.*

Ces subtances peuvent être de deux sortes : ou bien nutritives ou bien organogenétiques. A ce point de vue examinons le rôle du saccharose.

Les séries IV (1 feuille) et V (0 feuille) reçoivent un excès de saccharose purissime à 1 1/2 % (fig. 29 et 30) par la section du pétiole de l'une ou des deux feuilles du 2e élément.

Le saccharose augmente considérablement le nombre des racines formées dans ces deux dernières séries. Le tableau I le montre. Ce nombre est dès le début plus grand que dans les séries correspondantes qui ne reçoivent pas de saccharose.

Le saccharose permet aux boutures des séries comparables quant au nombre de feuilles, de produire un nombre de racines plus grand que celui qu'elles sont capables de former sans traitement avec sucre.

Ainsi (Voir tableau II), après 21 jours, les boutures sans feuille manifestent :

sans sucre : 54 racines
avec sucre : 72 racines

ce qui fait que le saccharose est responsable de 18 racines.

Après 21 jours, les boutures avec 1 feuille manifestent :

TABLEAU II.

Comparaison des résultats moyens du tableau I après 21 jours.

1 feuille + saccharose : 97 racines (± 7,4). ⟶	1 feuille sans saccharose : 66 racines (± 5,2) ⟶	Effectivité du saccharose en présence d'une feuille 97 — 66 = 31 racines.
↓	↓	
0 feuille + saccharose : 72 racines (± 3). ⟶	0 feuilles sans saccharose : 54 racines (± 3) ⟶	Effectivité du saccharose en l'absence de feuille. 72 — 54 = 18 racines.
↓	↓	
Effectivité d'une feuille en présence de saccharose : 25 racines. ⟶	Effectivité d'une feuille sans appoint de saccharose : 12 racines. ⟶	Supplément de racines dû à l'action simultanée du saccharose et d'une feuille : 13 racines.

sans sucre : 66 racines
avec sucre : 97 racines

ce qui fait que le saccharose est responsable de 31 racines.

Nous constatons cependant que le saccharose est plus effectif dans le cas de la présence d'une feuille d'une quantité équivalente à 31 — 18 = 13 racines en moyenne.

Si maintenant nous comparons les plantes de la série IV munies d'une feuille et de saccharose et celles de la série V sans feuille avec saccharose, nous constatons que la présence d'une feuille provoque par rapport aux plantes sans feuille un supplément de 25 racines.

Ce supplément de 25 racines obtenu avec sucre est à mettre en parallèle avec l'expérience sans saccharose, où nous avons vu que la présence d'une feuille donne 12 racines de plus que sans feuille.

Le saccharose doit être tenu responsable de la formation de 25 — 12 = 13 racines en moyenne de plus que lorsque la tige n'en a pas un excès à sa disposition mais à condition qu'une feuille soit présente.

Qu'il s'agisse des expériences avec sucre ou sans sucre, la présence d'une feuille marque son influence. Il est clair que le sacharose en excès n'a pas la même action quantitative sur le nombre des racines lorsque les boutures sont munies d'une feuille ou en sont dépourvues.

A notre avis, au départ, le sucre est un facteur limitant dans les boutures (R. BOUILLENNE et WENT, 1933). Donné en excès, il met en évidence les potentialités radiculaires propres à chaque série de boutures mais il ne cache pas le rôle de la feuille. Il agit en quelque sorte comme un révélateur de ce que l'unique feuille

appôrte au 2e élément comme possibilité de rhizogenèse. Possibilité qu'il ne met pas en évidence lorsque la feuille est absente, toutes autres conditions étant pareilles.

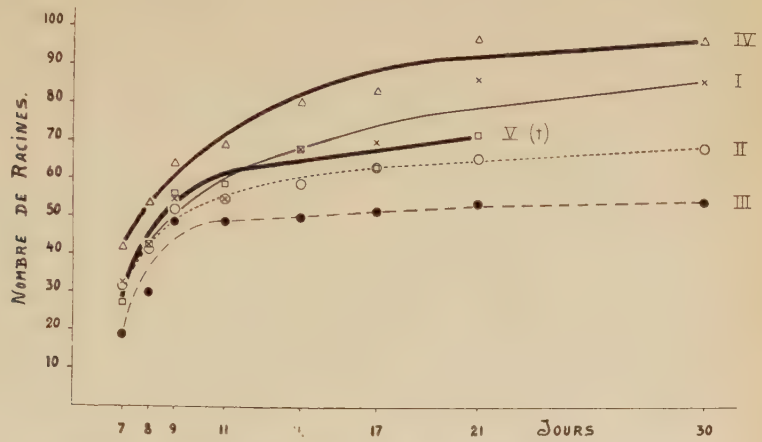


Fig. 31. — Diagramme montrant l'influence du nombre des feuilles, avec ou sans appoint de saccharose purissime, sur le nombre de racines produit par un traitement à l'hétéroauxine. Les boutures de la série V meurent après 21 jours d'expérience.

Nous pouvons donc conclure que, *en présence d'une même quantité d'hétéroauxine*, le nombre de racines formées sur le 2e élément d'une bouture *cultivée à la lumière* est en fonction du nombre de feuilles présentes sur la tige et d'un appoint de saccharose. L'influence de la feuille reste évidente, même si les boutures reçoivent ce supplément de saccharose.

* * *

En ce qui concerne la longueur des racines formées sur les individus des différentes séries, les résultats obtenus présentent également un grand intérêt. Nous avons tenu compte dans chaque individu de la longueur de la plus longue racine qui a été formée.

Après le 2e jour, dans les séries I, II et IV (qui portent au moins une feuille) la taille des racines est nettement supérieure à celle que l'on mesure dans les séries III et V (pas de feuille).

Dans les cas des séries à une feuille, on voit qu'avec ou sans sucre la longueur des racines reste la même (75-70 mm.). Dans le cas de plantes sans feuille également, même lorsque le sucre est administré à double dose (15 mm.-20 mm.).

Mais, quand on compare la longueur atteinte, en présence de sucre, par les racines des plantes sans feuille ou munies d'une feuille (respectivement 20 mm. et 70 mm.) on se rend clairement compte que la feuille doit jouer un autre rôle que celui de

fournisseur de sucre. Ce rôle en ce qui concerne la longueur est éclairci depuis les expériences de Bonner (1937) (3, 4, 5, 6) qui ont montré que les racines cultivées in vitro ne peuvent s'allonger qu'en présence de vitamine B^1 et celles de Bouillenne (1938) (12) confirmant ces résultats sur hypocotyles inanitiés de *Impatiens Balsamina*.

Au cours de cette expérience, les boutures de *Coleus* ont été maintenues dans des conditions optimales (lumière, humidité, température). Les résultats du traitement étaient donc une expression à la fois de la mise en expérience et de l'acquit obtenu par ces plantes pendant leur végétation précédente.

IV. Influence de la lumière.

Un vaste lot de boutures a été traité à l'hétéroauxine et mis ensuite d'une part à la lumière solaire, en serre, sous couche et d'autre part à l'obscurité dans une cave dont les conditions de température et d'humidité sont les mêmes que celles de la couche.

Ce lot de boutures a subi une préparation préalable sur laquelle nous allons attirer l'attention.

En effet, à la suite de l'expérience précédente nous avons été amené à conclure que le nombre de racines apparues sur les boutures dépendait non seulement du traitement mais aussi du « bagage » de substances obtenu par ces plantes en cours de leur végétation antérieure. Dans ces conditions, avant la mise en expérience, toutes les boutures subissent un processus d'inanition réalisé d'après la technique de R. Bouillenne (1933) :

Toutes les boutures sont plantées dans du sable ; elles sont placées pendant 8 jours à l'obscurité complète et arrosées d'une solution de Knop diluée 3 fois.

Le 8e jour, on les prépare pour l'expérimentation, de manière qu'elles ne portent plus que les feuilles du 2e élément de tige ainsi que le pétiole de l'une des 2 feuilles du 3e élément.

C'est ce pétiole que l'on introduit dans le réservoir du dispositif et qui assure l'alimentation en sucre de la bouture (fig. 25).

Après cette amputation et cet apport de sucre les plantes sont laissées dans cet état pendant 4 jours encore, à l'obscurité, afin de leur permettre de rétablir éventuellement un métabolisme normal.

Ainsi donc, après 12 jours d'obscurité complète, le traitement à l'hétéroauxine commence sur ces boutures qui toutes ont reçu du sucre depuis 4 jours et continueront à en recevoir. Ce traitement a été fait le 5 avril. L'application de la pâte à 3 % d'hétéroauxine dans la lanoline se fait au niveau du 2e élément de tige comme précédemment. Sur les boutures témoins, on applique de la même façon de la pâte faite de lanoline et d'eau distillée. Les boutures sont réparties en trois séries :

1re *série* : Témoins sans hétéroauxine ; les individus sont placés, en nombre égal, à la lumière et à l'obscurité.

2e *série* : 6 boutures placées à la lumière solaire (hétéroauxine).

3e série : 6 boutures placées à l'obscurité (hétéroauxine).

Les résultats sont consignés dans le tableau III.

TABLEAU III.

Action de l'Hétéroauxine à la lumière et à l'obscurité.

Les boutures standardisées (2 feuilles) ont été préalablement inanitiées pendant 12 jours, mais ont cependant subi un traitement au saccharose en excès pendant les 4 derniers jours de l'inanition.

Ce traitement au saccharose est prolongé pendant toute la durée de l'expérience. Le signe † désigne les plantes mortes ou mourantes.

Processus d'inanition pendant 12 jours	Jours après l'application de l'hétéroauxine :	Racines sur le 2me élément		
		7 jours	9 jours	15 jours
Après 8 jours, traitement au saccharose jusqu'à la fin	1re Série. Témoins 12 boutures — Lumière	0	0	0
	1re Série. Témoins 12 boutures — Obscurité	0	0	0
	2e série Lumière solaire 6 boutures	26,25,25 22,32,22 Moy. : **25**	37,42,33 24,36,30 Moy. : **32**	47,37,49 28,38,41 Moy. : **40**
	3e Série Osbcurité (6 boutures)	0, 0, 3 6, 0, 0 Moy. : **3**	†2, 6,12 15, 8,†0 Moy. : **10**	†2, 6,12 19, 9,†0 Moy. : **12**

Les témoins à la lumière et à l'obscurité ne forment pas de racines sur le 2e élément de tige.

L'hétéroauxine déclanche des racines sur le 2e élément à l'obscurité comme à la lumière. Mais il est important de considérer le nombre de racines apparues.

Dans les deux conditions, le nombre des racines augmente assez rapidement jusqu'au 9e jour. Ensuite, les boutures à l'obscurité qui, grâce à l'administration de saccharose restent parfaitement saines et gardent les feuilles en excellent état, ralentissent considérablement la formation des racines tandis que les boutures cultivées à la lumière continuent à en accroître le nombre de manière régulière et rapide (voir Fig. 32).

Au 15e jour, les boutures cultivées à la lumière portent 3,5 fois plus de racines que les plantes maintenues à l'obscurité (moyenne 40 à la lumière ; moyenne 12 à l'obscurité).

Ainsi donc, si nous comparons ce résultat avec celui obtenu précédemment (voir page 178), où les boutures, munies de 2 feuilles traitées à l'hétéroauxine, à la lumière sans sucre, ne sont pas préalablement inanitiées et où nous avons observé 68 racines après 14 jours, nous constatons que malgré l'administration de sucre en excès :

1° le processus d'inanition, préalable au traitement à l'hétéroauxine, enlève aux boutures cultivées à la lumière un potentiel important de néoformation : de 68 à 40 ;

2° l'absence de lumière après l'inanition fait tomber encore plus bas ce potentiel : de 68 à 12.

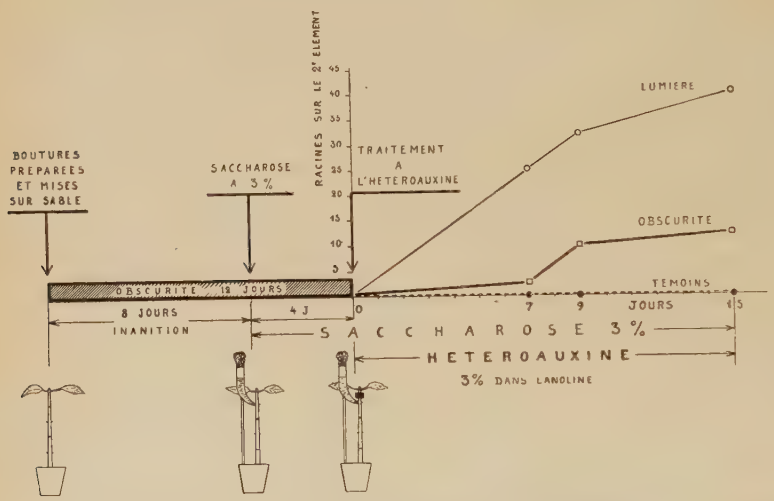


Fig. 32. — Diagramme montrant l'action rhizogénique de l'hétéroauxine, à la lumière et à l'obscurité, sur des boutures ayant préalablement subi le processus d'inanition à l'obscurité et étant alimentées par une solution de saccharose purissime à 1,5%

Il en résulte que lorsqu'on diminue par le processus d'inanition, le bagage substantiel que portent les tiges au départ de nos expériences, l'hétéroauxine se révèle nettement moins active. Elle manifeste à nouveau son pouvoir rhizogénique lorsque les feuilles se trouvent à la lumière. *La lumière apporte donc dans la rhizogenèse un facteur autre que le saccharose, facteur que l'hétéroauxine peut mettre en évidence.*

De cette manière il semble permis de dire que le processus d'inanition a fait perdre, à cette partie de la tige, un certain potentiel de formation radiculaire et cela doit être d'autant plus vrai qu'ici les boutures à 2 feuilles reçoivent du sucre en abondance.

Cette perte n'a pas été totale puisque les plantes maintenues à l'obscurité continuelle, traitées à l'hétéroauxine en présence de sucre, ont encore le pouvoir de faire apparaître une dizaine de racines.

Nous savons par les expériences de R. et M. Bouillenne (l. c.) (1938) qu'il persiste généralement dans les tissus inanitiés une certaine quantité de composés responsables de la formation des racines qui peuvent se manifester par un traitement soit de saccharose quand il est dans les tissus facteur limitant, soit d'hétéroauxine.

Il n'est pas contestable que l'hétéroauxine à forte concentration (3 %) favorise ou hâte la néoformation des racines, mais pour autant que les boutures contiennent cet autre facteur qui n'est pas le saccharose et qui est élaboré par les feuilles à la lumière.

D'une part, quel peut-être ce facteur ?

Ce facteur pourrait se présenter, soit sous forme de sucre naissant, résultat de la photosynthèse dans les feuilles, sucre peut-être plus actif que le saccharose... soit de vitamines, dont la vitamine B^1 qui a été reconnue comme ayant une nette influence sur la croissance des racines mais non cependant sur le nombre de celles-ci (J. Bonner, R. Bouillenne, M. Bouillenne-Walrand) .. ce peut être également d'après Cooper (1938), F. Went (1938) et R. et M. Bouillenne (1938), la Rhizocaline, c'est-à-dire le complexe responsable de l'organisation en primordium radiculaire des massifs de tissus dont l'hétéroauxine a déclanché l'apparition rapide et nombreuse dans les tiges, comme nous l'avons vu page 166.

D'autre part, quel serait dans ces conditions l'action de l'hétéroauxine ?

Assurément pas le rôle fondamental de la rhizogenèse puisque la quantité fournie aux plantes est la même dans les deux séries. Il a été montré d'ailleurs que des racines se forment sur des tissus qui ne contiennent aucune trace dosable de cette substance (R. Bouillenne et M. Bouillenne-Walrand, 13, 1939).

Mais on peut imaginer, comme F. Went en a émis l'hypothèse, que le facteur responsable de la formation des racines entre en combinaison avec l'hétéroauxine et se trouve ainsi activé. Nous pensons que ce point de vue est très défendable, et nos expériences semblent le confirmer. Il serait cependant possible d'attribuer à l'hétéroauxine uniquement le rôle d'activer le jeu des mitoses cellulaires du cambium et de produire rapidement un grand nombre de masses de tissus que nous avons décrites dans nos observations anatomiques ; masses capables ou non de se différencier en structure radiculaire, selon la présence ou l'absence du facteur d'organisation que nous postulons.

V. Translocation des facteurs rhizogenétiques.

S'il existe réellement un facteur rhizogenétique élaboré dans les feuilles à la lumière, il doit nécessairement être transporté aux endroits où apparaissent les racines. Ainsi dans les boutures normales, ce facteur doit-il atteindre la base de la tige où le bouturage se fait.

Donc l'utilisation éventuelle de ce facteur au niveau du 2e élément sous l'action de l'hétéroauxine devra, au cas où cette hypothèse est exacte, se traduire par une diminution du nombre des racines formées à la base de la bouture.

Pour vérifier cette hypothèse, nous avons organisé une expérience dans laquelle

la base des boutures est traitée par une solution de 0,002 % d'hétéroauxine dans du saccharose purissime à 1,5%, tandis que le 2e élément reçoit un anneau de pâte de lanoline contenant de l'hétéroauxine, comme précédemment.

1re *Expérience.*

L'expérience débute le 2 juin et se termine le 22 juin 1938. 24 rameaux identiques ont été détachés de notre réserve de *Coleus*. Ces rameaux ont été mis à bouturer sur sable et ont été préparés comme il a été dit (v. technique) : ils ne portent donc plus que les 2 feuilles du 2e élément de tige. Ils commencent à faire des racines à la base. Tous ces rameaux sont ensuite inanitiés pendant 9 jours à l'obscurité complète. Le 7e jour on constate qu'ils portent généralement, à la base du 6e élément de tige 12 racines.

La préparation de l'expérience a été réalisée comme suit : pendant que les boutures sont encore à l'obscurité, le 7e jour, la base est sectionnée de manière à éliminer les racines.

Après 2 derniers jours d'inanition, c'est-à-dire le 11 juin 1938, les rameaux sont transférés en solution minérale de Knop dans des rampes en Pyrex pouvant contenir 500 cc. de solution (dispositif imaginé par M. Bouillenne (voir fig. 33). La solution de Knop est renouvelée tous les 2 jours. Ces rampes sont disposées sous couche à la lumière solaire. Les 24 boutures sont réparties en 4 séries subissant les traitements suivants :

Série I. — solution de Knop + 1,5 % de saccharose.
— anneau de pâte lanoline + eau sur le 2e élément.

Série II. — solution de Knop + 1,5 % de saccharose + 0,002 % d'hétéroauxine
— anneau de pâte lanoline + eau sur le 2e élément.

Série III. — solution de Knop + 1,5 % saccharose.
— anneau de pâte lanoline + 3% hétéroauxine sur le 2e élément.

Série IV. — solution de Knop + 1,5 % saccharose + 0,002 % d'hétéroauxine dans solution de culture.
— anneau de pâte lanoline + 3 % hétéroauxine sur le 2e élément.

Les racines sont comptées les 7e, 9e et 11e jours après le traitement. Jusqu'à ce moment aucune moisissure ne s'est développée dans le milieu.

Les résultats sont notés dans le tableau IV et le diagramme, (Fig. 34).

Nous constatons :

1° que les boutures qui ne reçoivent pas d'hétéroauxine sur le 2e élément ne présentent pas de formation radiculaire sur celui-ci, quel que soit le traitement subi par la base ;

2° que celles qui ne subissent aucun traitement basal à l'hétéroauxine, produisent, à la base, c'est-à-dire sur le 6e élément, une moyenne de 17 à 18 racines, même si le 2e élément a été traité ;

3° que celles qui ne subissent qu'un traitement basal forment sur leur base,

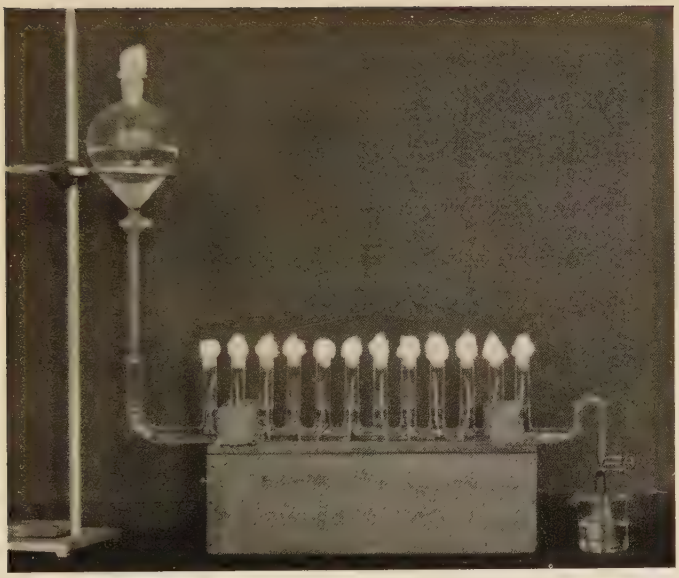


Fig. 33. — Dispositif de R. et M. Bouillenne permettant la culture aseptique des boutures et le renouvellement fréquent des solutions. L'appareil est ici monté en vue d'une expérience sur hypocotyles de *Impatiens Balsamina*.

34 racines, c'est-à-dire que l'action de l'hétéroauxine se traduit par une augmentation de 17 racines par rapport au témoin ;

TABLEAU IV.

Action de l'hétéroauxine appliquée simultanément sur le 2e élément de tige de boutures de *Coleus* (dans pâte à lanoline) et à la base du 6e élément (solution).

Boutures préalablement inanitiées, mais alimentées d'une solution de Knop et de Saccharose.

Tableau IV

		7 jours	9 jours	11 jours	Total par expér.
1re Série (Knop+Sacch.)	IIe ÉLÉM. témoins	0	0	0	17
	BASE VIe élém.	12 (12)	14 (20)	17 (22)	
2e Série (Knop+Sacch.)	IIe ÉLÉM.	0	0	0	34
	BASE VIe élém.	21 (15)	29 (19)	34 (24)	
3e Série (Knop+Sacch.)	IIe ÉLÉM	31 (A)	56 (12)	65 (20)	83
	BASE VIe élém.	13 (16)	15 (18)	18 (18)	
4e Série (Knop+Sacch.)	IIe ÉLÉM.	34 (A)	46 (10)	55 (15)	80
	BASE VIe élém.	20 (9)	22 (16)	25 (20)	

4° que les boutures traitées à l'hétéroauxine au niveau du 2e élément produisent en plus des 18 racines de la base, 65 racines sur ce 2e élément ;

5° enfin que les plantes traitées à la fois par la base et au niveau du 2e élément produisent : sur le 2e élément, 55 racines à la base, 25 racines.

Le traitement du 2e élément réduit de 9 le nombre des racines produites à la base par l'hétéroauxine.

Le traitement basal réduit de 10 le nombre des racines formées sur le second élément par l'hétéroauxine.

Ce dernier résultat est remarquable : l'hétéroauxine, appliquée en même temps au 2me élément et à la base, met en quelque sorte en concurrence les possibilités radiculaires de ces deux parties de tiges et les diminuent toutes deux par rapport au nombre de racines qu'elles présentent par l'hétéroauxine lorsqu'elles sont traitées séparément.

Il est de plus utile de noter que l'application d'hétéroauxine sur le 2me élément n'a pas d'influence sur le nombre de racines de la base lorsque celle-ci n'est pas traitée elle-même ; de même le traitement de la base n'a pas d'effet sur le 2me élément intact.

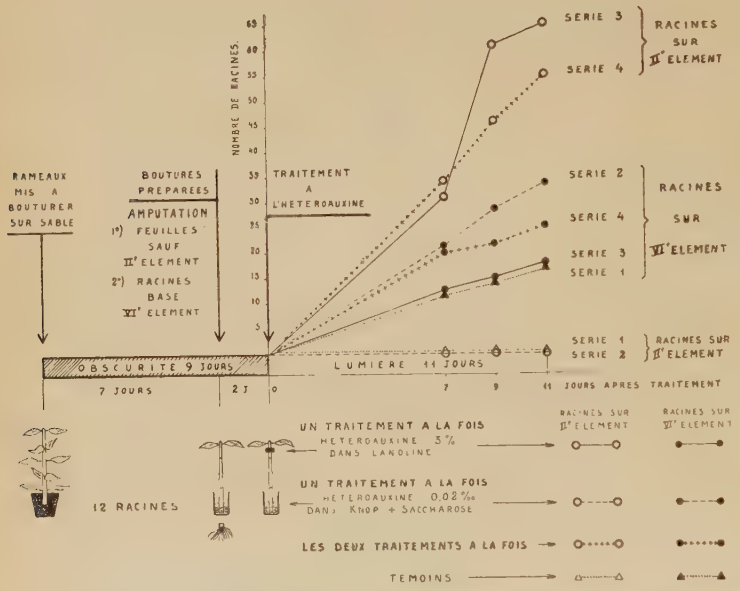


Fig. 34. — Diagramme montrant l'action de l'application simultanée d'Hétéroauxine aux 2 extrémités de boutures préalablement inanitiées, mais alimentées par une solution de Knop et de saccharose.

Il semble bien que l'on puisse penser que l'action simultanée de l'hétéroauxine sur le 2me élément et sur la base de nos boutures mette les tissus intéressés en déficience partielle des substances utiles ; déficience qui ne se produit pas dans les cas où une seule région est traitée. Les substances incluses dans les boutures au début de notre expérience se présentent donc comme si elles étaient de quantité limitée.

Mais surtout ce qui frappe en conclusion, c'est qu'elles doivent être déplacées dans la tige au profit d'une région lorsque celle-ci est seule traitée et être partagées entre deux régions lorsque l'application de l'hétéroauxine est double.

La nature de ces substances utiles de la rhizogenèse qui peuvent être ainsi mobilisées par l'action de l'hétéroauxine se pose à présent. Il ne semble pas à priori dans les conditions de notre expérience que les sucres puissent être considérés en ordre principal puisque chaque bouture porte 2 feuilles à la lumière et reçoit, dans la solution, la même quantité de saccharose en excès. Il est d'autres facteurs d'ordre nutritif ou micro-nutritif qui sont impliqués dans la rhizogenèse, facteurs qui pourraient agir comme facteurs limitants : les acides aminés, certaines vitamines, la rhizocaline, etc...

Dès lors une nouvelle expérience s'est imposée, dans laquelle, nous avons tenté d'élucider la question de savoir quelle est la nature du facteur mobilisable par l'action de l'hétéroauxine.

* * *

2me *Expérience.*

Cette expérience, conçue suivant le même schéma que la précédente, fait intervenir les *acides aminés.*

Elle est réalisée sous couche, en lumière solaire. Elle commence le 28 octobre et se termine le 29 novembre.

Les boutures qui cette fois comptent 7 éléments de tige ont été préparées le 28 octobre. Elles sont placées en solution de Knop. Le 30 octobre, elles subissent la technique d'inanition : elles sont placées à l'obscurité complète et y séjournent jusqu'au 11 novembre. A cette date, la base qui a formé en moyenne 12 racines est enlevée. Il reste, comme d'ordinaire, 6 éléments.

Les boutures inanitiées sont alors transportées à la lumière. Leur base plonge dans la solution de Knop. Elles sont partagées en 4 groupes répartis chacun en 4 séries.

Goupe A. 12 boutures. Toutes les boutures des 4 séries de ce groupe plongent continuellement par la base dans une solution de Knop seule.

Série 1. — 3 boutures témoins — la base plonge sans cesse dans solution de Knop.
Application de pâte lanoline + eau distillée sur le 2e élément de tige.

Série 2. — 3 boutures — traitées par la base, chaque jour pendant 2 h. par une solution d'hétéroauxine à 0,002 % (solution purissime).
Application de pâte lanoline + eau distillée sur le 2e élément de tige.

Série 3. — 3 boutures — plongeant par la base, continuellement dans une solution de Knop seule.
Application de pâte lanoline à 3 % d'hétéroauxine sur le 2e élément de tige.

Série 4. — 3 boutures — traitées par la base, chaque jour pendant 2 h. à l'hétéroauxine en solution à 0,002 %.
Application de pâte lanoline à 3 % d'hétéroauxine *au sommet* (1).

Groupe B. 16 boutures.

Toutes les boutures des 4 séries de ce groupe plongent continuellement par la base dans solution de Knop seule. Mais en plus des boutures du groupe A, elles sont traitées chaque jour pendant 2 h., par une solution de saccharose à 3 % (sol. purissime). Les 4 séries sont soumises en outre aux mêmes traitements, par la base et par le sommet, que les séries du groupe A.

---

(1) Dans cette 4me série, comme dans toutes les séries n° 4 des groupes suivants, la pâte à l'hétéroauxine a été appliquée non pas sur le 2me élément, mais sur le sommet de la tige (1er élément), par suite du manque de matériel disponible.

Groupe C. 16 boutures.

Toutes les boutures des 4 séries de ce groupe plongent continuellement par la base dans solution de Knop seule. Mais en plus de cela, elles sont traitées par la base, chaque jour pendant 2 h., par une solution d'acides aminés à 0,002 % (sol. purissime).

Les 4 séries sont soumises en outre aux mêmes traitements, par la base et par le sommet, que les séries du groupe A.

Groupe D. 16 boutures.

Toutes les boutures des 4 séries de ce groupe plongent continuellement par la base dans solution de Knop seule. Mais en plus de cela, elles sont traitées par la base, chaque jour pendant 2 h., par une solution contenant 3 % de saccharose et 0,002 % d'acides aminés. Les 4 séries sont soumises en outre aux mêmes traitements par la base et par le sommet, que les séries du groupe A.

La solution d'acides aminés est constituée par un mélange de 1 partie de solution de Leucine à 0,002 % et 1 partie de solution d'Alanine à 0,002 % (Ces deux acides sont des produits purissimes Merck).

Les résultats de cette expérience sont consignés dans le tableau V.

Dans ce tableau, nous n'introduisons que les chiffres moyens obtenus après 5-10 et 18 jours de traitement.

La comparaison des diverses séries témoins, concernant le nombre de racines apparues sur la base des boutures, montre que le saccharose ou les acides aminés ajoutés à la solution de Knop pendant 2 heures chaque jour n'augmente guère la formation radiculaire. Tout au plus le saccharose est-il légèrement plus actif, ce qui se comprend par le fait qu'après le traitement d'inanition à l'obscurité le sucre est devenu moins abondant dans les tissus. C'est le mélange des 2 solutions qui donne le meilleur résultat (24 racines de 60 mm., au lieu de 17 de 12 mm.). Ce fait confirme les conclusions obtenues sur plantules de *Impatiens Balsamina*, traitées de la même manière (R. et M. Bouillenne (l. c.) (1938).

Lorsque les plantes baignant par la base continuellement dans la solution de Knop sont traitées chaque jour pendant 2 heures par ces diverses solutions, et reçoivent en outre pendant ce même temps 0,002 % d'hétéroauxine (les séries 2 des différents groupes) on constate :

1° qu'aucune racine ne se forme sur les divers éléments de tige sauf à la base, comme dans les témoins.

2° que la néoformation est accélérée, mais l'ordre d'effectivité des solutions est modifié par l'adjonction d'hétéroauxine.

En présence d'hétéroauxine, ce sont les solutions de Knop + saccharose et de Knop pure qui l'emportent sur les solutions de Knop + saccharose + acides aminés. et Knop + acides aminés. Cette dernière est la moins efficace, mais il est possible que les acides aminés en *présence d'hétéroauxine* manifestent une certaine action toxique.

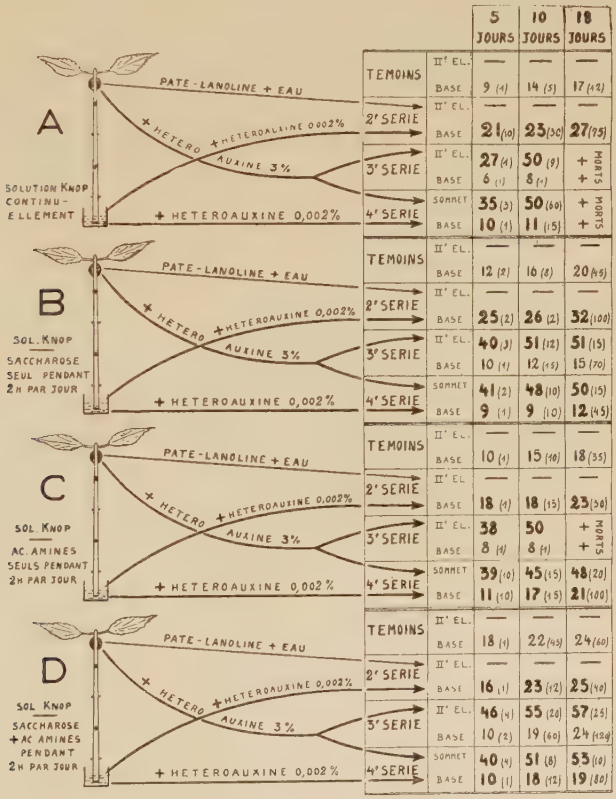
3° que, dans l'ensemble, les résultats de ces 2es séries sont comparables à ceux de l'expérience précédente. De part et d'autre l'hétéroauxine appliquée à la base

n'a aucune influence sur le 2e élément ; et de plus cette substance en présence de saccharose (ici appliquée seulement pendant 2 h. par jour, mais à une concentration plus forte (3%) n'a aucune action également sur la base : respectivement 32 et 34 racines.

Tableau V

Action de l'hétéroauxine appliquée simultanément sur le 2e élément de tige (dans pâte à lanoline) et à la base du 5e élément (solution).

Boutures préalablement inanitiées. La solution en contact avec la base varie dans chacun des groupes A. B. C. D.



			5 JOURS	10 JOURS	18 JOURS
A	TEMOINS	IIe EL.	—	—	—
		BASE	9 (1)	14 (5)	17 (12)
	2e SERIE	IIe EL.	—	—	—
		BASE	21 (10)	23 (30)	27 (75)
	3e SERIE	IIe EL.	27 (4)	50 (9)	+ MORTS
		BASE	6 (1)	8 (1)	+
	4e SERIE	SOMMET	35 (3)	50 (60)	+ MORTS
		BASE	10 (1)	11 (15)	+
B	TEMOINS	IIe EL.	—	—	—
		BASE	12 (2)	16 (8)	20 (45)
	2e SERIE	IIe EL.	—	—	—
		BASE	25 (2)	26 (2)	32 (100)
	3e SERIE	IIe EL.	40 (3)	51 (12)	51 (15)
		BASE	10 (1)	12 (15)	15 (70)
	4e SERIE	SOMMET	41 (2)	48 (10)	50 (15)
		BASE	9 (1)	9 (10)	12 (45)
C	TEMOINS	IIe EL.	—	—	—
		BASE	10 (1)	15 (10)	18 (35)
	2e SERIE	IIe EL.	—	—	—
		BASE	18 (1)	18 (15)	23 (50)
	3e SERIE	IIe EL.	38	50	+ MORTS
		BASE	8 (1)	8 (1)	+
	4e SERIE	SOMMET	39 (10)	45 (15)	48 (20)
		BASE	11 (10)	17 (15)	21 (100)
D	TEMOINS	IIe EL.	—	—	—
		BASE	18 (1)	22 (45)	24 (60)
	2e SERIE	IIe EL.	—	—	—
		BASE	16 (1)	23 (12)	25 (40)
	3e SERIE	IIe EL.	46 (4)	55 (20)	57 (25)
		BASE	10 (2)	19 (60)	24 (120)
	4e SERIE	SOMMET	40 (4)	51 (8)	53 (10)
		BASE	10 (1)	18 (12)	19 (80)

Dans toutes les séries de chaque groupe nous comptons les racines formées à la base et au 2e élément ou au sommet des boutures et nous donnons, en exposant, la longueur maximum (en mm.) atteinte par les racines de chacune d'elles.

Il convient ensuite d'examiner l'action de la pâte à l'hétéroauxine appliquée sur le 2e élément dans les cas de boutures dont la base se trouve pendant 2 h. dans les diverses solutions des groupes (aucun traitement à l'hétéroauxine), (Voir les séries 3 des différents groupes).

On voit dans tous les cas :

1° que les racines apparaissent abondamment sur le 2e élément d'une manière fort uniforme en fin d'expérience (entre 50 et 57).

2° que les racines à la base des boutures restent en nombre comparable à celui des témoins dans les groupes B et D, tandis que dans les groupes A et C, elles sont beaucoup moins nombreuses et restent courtes.

Ce résultat ne peut être interprété qu'à la lumière des faits suivants : d'abord, les plantes des groupes B et D ont toutes reçu du saccharose, les plantes des groupes A et C n'en ont pas reçu ; ensuite, les plantes de ces derniers groupes meurent avant la fin de l'expérience — que la solution soit constituée de Knop seul ou bien de Knop plus acides aminés.

Nous pensons que les boutures après avoir subi le processus d'inanition et la rapide néoformation due à l'hétéroauxine sur le 2e élément, sont épuisées en glucides. La photosynthèse qui se produit ensuite est insuffisante pour la consommation.

Nous concluons que dans les groupes A et C, les racines sont moins nombreuses par suite de la déficience en glucides agissant comme facteur limitant. Cette déficience doit être la cause déterminant la mort. Par conséquent les groupes B et D, où il y a du saccharose, sont les seuls dont nous puissions tenir compte.

En outre, nous tirons de ces constatations, l'indication importante que l'application d'hétéroauxine produit une consommation considérable de glucides et que par conséquent, cette substance pourrait bien avoir une action marquée sur le métabolisme des tissus. C'est ce que nous vérifierons dans la suite de notre exposé !

Il est intéressant de signaler enfin, que, dans les conditions des diverses 3mes séries de cette expérience, comme dans celles de l'expérience précédente, (3me série) l'application de pâte à hétéroauxine sur le 2e élément n'influence pas le nombre de racines formées à la base, sans hétéroauxine.

Nous tenons à faire remarquer d'autre part que les solutions au contact de la base ont une légère influence sur la réaction de l'hétéroauxine appliquée au 2e élément. La plus effective des solutions est celle où il y a à la fois saccharose et acides aminés (57 racines de 25 mm. contre 50 ou 51 de 15 mm.).

Voyons maintenant les résultats des 4es séries des groupes. Le sommet de la tige est traité à la pâte à hétéroauxine. La base des boutures plongeant continuellement dans la solution de Knop pure subit, chaque jour pendant 2 h., un traitement avec les solutions (saccharose, ou acides aminés, ou saccharose + acides aminés) et reçoit en outre pendant ce même temps l'influence de la solution à 0,002 % d'hétéroauxine.

D'une manière générale, l'action simultanée de l'hétéroauxine appliquée à la base et au sommet des boutures ne modifie pas considérablement les résultats précédents.

1° dans la solution de Knop seule, le nombre des racines sur le sommet est le même que dans le cas des boutures dont le 2e élément est traité à la pâte et où la base n'est pas traitée à l'hétéroauxine ; mais les boutures meurent avant la fin de l'expérience. Par conséquent le saccharose est déficient et fonctionne comme facteur limitant.

2° dans la solution de Knop + saccharose, le nombre de racines sur le sommet et à la base se trouve à peu près dans le même rapport que dans l'expérience précédente p. 188 ; comme alors, la base a moins de racines qu'elle n'en aurait si elle était seule traitée ; cependant, dans ce cas, le sommet en a à peu près le même nombre.

Pouvons-nous attribuer cette différence au fait que ici c'est le 1er élément et non le 2e qui a été traité ?

3° les acides aminés seuls augmentent l'effectivité de l'hétéroauxine quant à la formation radiculaire à la base, mais non au sommet par rapport à 2° ; de plus, chose curieuse, l'hétéroauxine quand elle est en contact avec la base, a pour effet de maintenir vivantes les plantes qui meurent lorsqu'elles sont traitées par les acides aminés sans saccharose et par l'hétéroauxine en pâte au sommet. L'hétéroauxine produit donc le résultat de mobiliser vers le bas une certaine quantité de matières nutritives (glucidiques) qui permet le développement des racines au 6e élément et la vie de la bouture.

4° les solutions acides aminés + saccharose appliquées à la base des boutures traitées à la base et au sommet par l'hétéroauxine confirment complètement les résultats de l'expérience précédente

Ainsi donc cette expérience confirme la précédente au point de vue de l'action de l'hétéroauxine ; elle laisse entrevoir en outre combien est importante dans l'appréciation des résultats, la part jouée par les éléments nutritifs comme saccharose et acides aminés. Elle laisse entrevoir la mobilisation de glucides vers les endroits en voie de néoformation radiculaire, sous l'influence de l'hétéroauxine, mobilisation permettant le maintien en vie de la bouture. Enfin, si, dans cette expérience, l'on compare l'ordre de grandeur de l'influence des glucides et des acides aminés sur la rhizogenèse, à celui de l'action de l'hétéroauxine, dans les divers milieux, on constate que cette dernière substance est beaucoup plus active. Et, dès lors, en raison des considérations émises précédemment sur son rôle éventuel vis-à-vis des substances organisatrices de la structure radiculaire, l'hétéroauxine serait capable de mobiliser également vers les endroits où elle est appliquée le facteur d'organisation lui-même, la rhizocaline.

Cette hypothèse confirme le point de vue de Cooper et de Went 1938 qui pensent que la rhizocaline serait mobilisée par les auxines vers les endroits traités.

De plus, elle ne contredit pas l'hypothèse défendue par R. Bouillenne que la rhizocaline se trouve normalement répartie dans tous les éléments de la tige (peut-être spécialement dans certains tissus), dès la formation de ces éléments à partir des activités du méristème, puisque déjà le 2e élément de tige en est pourvu, le 1er élément également. Dans ces conditions, elle peut être mobilisée par l'hétéroauxine.

VI. Métabolisme des tissus du 2e élément, au cours de la rhizogenèse.

La constatation faite, dans l'expérience précédente (2me expérience) où les bou-

tures non pourvues de saccharose meurent toutes pendant la rhizogenèse provoquée par l'action de l'hétéroauxine, nous impose d'avoir une idée aussi précise que possible des processus physiologiques que provoque l'hétéroauxine sur les tissus.

Il est évident que des modifications internes aussi importantes dans la tige doivent trouver leur origine dans un changement du métabolisme, sinon de la plante entière, du moins de la partie de la plante où ces modifications se produisent, ou plus exactement encore des tissus capables de manifester les réactions mitotiques que nous avons décrites. Il s'agit donc tout d'abord de trouver un moyen de déceler ces changements affectant le métabolisme et de mettre au point une technique appropriée.

Les recherches que P. Prevot poursuivait en 1938 à côté de nous, sur les variations de l'intensité respiratoire des tissus en voie de bourgeonnement, ont mis à notre disposition une technique parfaitement au point.

Nous donnons, à titre préliminaire, le résultat de quelques analyses de la respiration du 2e élément de tige ayant subi le traitement à l'hétéroauxine de même que de la respiration des témoins.

Le matériel que nous employons est le même que celui que nous avons utilisé dans nos expériences précédentes. Il consiste en boutures de 6 éléments de tiges, de *Coleus Blumei*, variété *Triomphe du Luxembourg*. Les plantes qui nous fournissent ces boutures sont cultivées préalablement en terre de bruyère, comme précédemment.

Pour mesurer les échanges gazeux nous employons l'appareil de Dixon et Keylin (19, 1933), (voir pour détails M. Bouillenne et P. Prevot, 1937) (14). Nous avons cependant sur le conseil de P. Prevot préféré ne pas tuer les tissus. La première série de lectures nous donne h_1 qui indique une variation de volume à l'intérieur du manomètre due à la différence entre le volume d'oxygène absorbé et celui de CO_2 émis. h_1 varie avec le temps. Les valeurs successives portées sur le graphique nous donnent une courbe linéaire qui revient à zéro. Ensuite on met l'atmosphère du manomètre en contact avec la potasse.

On fait une première lecture quelques minutes plus tard et l'on obtient h^2, le volume d'oxygène absorbé jusqu'à ce moment. On fait ensuite, à intervalles réguliers plusieurs lectures de h^2. Ces lectures portées sur le graphique nous donnent une 2e courbe linéaire qui, par extrapolation revient à zéro également. La différence d'angle entre ces 2 courbes, à un moment déterminé nous donnera, en tenant compte de la constante du manomètre pour CO^2, le volume de CO^2 émis par le tissu. La valeur de h^2 multipliée par la constante du manomètre pour O^2, nous donnera le volume d'oxygène absorbé par le même tissu. Si nous divisons ces valeurs, prises à un même moment, par le temps d'expérimentation et le poids sec des tissus nous aurons les volumes de CO^2 émis et de O^2 absorbé par unité de temps et par unité de poids sec. Nous pouvons alors calculer le quotient respiratoire de ces tissus.

Pour mesurer la respiration du 2e élément, nous procédons comme suit :

On débite le 2e élément de 6 boutures en coupes de 1/2 mm. d'épaisseur. Ces

coupes sont lavées dans de l'eau alimentaire chauffée à 20°. Elles sont ensuite séchées sur papier filtre, pesées puis disposées en boîte de pétri, dans une étuve à 20°, à l'obscurité pendant 8 heures. Elles sont ensuite placées dans le manomètre contenant 1 cm^3 d'eau alimentaire. Celui-ci est plongé dans un thermostat dont l'eau est maintenue à une température constante de 20°. Ce thermostat est placé dans une cave à l'obscurité complète. Après 2 heures, on aère le manomètre et on ferme. Les lectures sont faites d'heure en heure. Au bout de 6 heures on met l'atmosphère en contact avec la potasse et on lit les dénivellations d'heure en heure.

60 boutures sont faites le 1er juillet et cultivées en solution de Knop, à la lumière, dans les conditions précisées plus haut. Le 6 juillet, 54 boutures sont préparées de telle sorte qu'elles ne conservent que les 2 feuilles du second élément.

Le 8 juillet on fait une première mesure de respiration sur le 2e élément de 6 boutures intactes et de 6 boutures préparées.

Le 9 juillet, 24 boutures reçoivent sur le 2e élément un anneau de pâte à la lanoline contenant 3 % d'hétéroauxine.

A partir de ce jour nous mesurons simultanément la respiration sur le 2e élément de 6 boutures non traitées et de 6 plantes traitées.

Ces mesures impliquent donc chaque fois l'utilisation de tissus provenant de 12 boutures ; elles sont faites aux dates suivantes : 12 juillet, 14 juillet, 16 juillet, 20 juillet.

Les résultats sont consignés dans le tableau VI et le diagramme, Fig. 35.

Les coupes faites dans l'élément traité au voisinage de la pâte à hétéroauxine paraissent transparentes, appauvries en chlorophylle et sont beaucoup moins rigides que celles dans les éléments témoins. De plus le diamètre de la section est devenu plus grand par suite de la réaction des tissus au traitement.

Considérons d'abord l'évolution de l'intensité respiratoire en CO^2 et en O^2 par gramme sec heure des tissus du 2e élément témoin.

Les premières mesures sont faites 2 jours après que les plantes ont été préparées et que les manifestations métaboliques résultant des amputations soient redevenues normales. Elles ont eu lieu le 8 juillet, à ce moment le rejet de CO^2 est de 1,34 et se stabilise (1,32) pendant les jours suivants tandis que l'absorption d'O^2 est élevée 1,98, et s'atténue ensuite. 6 jours après la préparation du matériel et sa mise en bouturage un redressement brusque se produit pour CO^2, plus lent pour O^2. Les valeurs volumétriques de ces deux gaz atteignent respectivement au bout de 2 et 4 jours un plateau identique qui persiste plus ou moins pendant 5 à 7 jours (2 — 2 — 2,2 — 2). Il en résulte pendant ce temps un Q. R. très voisin de l'unité.

La remontée des courbes et l'installation du plateau précède ou coïncide avec l'apparition des primordium de racines à la base de la bouture.

Examinons ensuite l'évolution de l'intensité respiratoire des tissus du 2e élément traité à la pâte à hétéroauxine appliquée le 9 juillet. Nous n'avons malheureusement pu faire de dosages avant le 12 juillet. Les premières manifestations métabo-

liques provoquées par le traitement nous ont donc échappé dans cette série d'expériences. Trois jours après le traitement, nous constatons par rapport aux tissus témoins, une nette augmentation de l'intensité des oxydations — accompagnée d'un Q. R. très voisin de l'unité. Cette intensité diminue rapidement pour CO^2, moins rapidement pour O^2, de sorte que (5 jours après le traitement) au moment où se forment les primordiums radiculaires sur le 2e élément de tige CO^2 est au plus bas et O^2 l'est beaucoup moins, ce qui donne un Q. R. anormal de 0,55.

TABLEAU VI.

Oxydations cellulaires des tissus du 2e élément après le traitement à l'hétéroauxine.

Nombre de jours après la décapitation et l'ablation des feuilles et des bourgeons.	V :	Plantes décapitées et munies de deux feuilles	Plantes décapitées et munies de deux feulles Traitement à l'hétéro-auxine	Nombre de jours après le traitement	
2	VCO_2 VO_2	1,34 Q.R.:0,68 1,98	—	—	—
6	VCO_2 VO_2	1,32 Q.R.:0,87 1,51	2,39 Q.R.:0,99 2,41	3	—
8 9	VCO_2 VO_2	2,20 Q.R.:1,2 1,77	1,07 Q.R.:0,55 1,99	5	Racines sur le 2me élément (Plantes traitées). Primordium de racines à la base (Plantes Témoins).
10	VCO_2 VO_2	2,00 Q.R.:1 2,00	1,33 Q.R.:0,82 1,62	7	—
14	VCO_2 VO_2	2,00 Q.R.: 0,92 2,20	2,27 Q.R.: 0,97 2,15	11	—

O^2 continue à descendre jusque 7 jours après le traitement cependant que CO^2 augmente d'intensité dès que les racines ont apparu et commencent à s'allonger. 12 jours après le traitement CO^2 et O^2 sont revenus à des valeurs égales entre

elles et comparables à celles des tissus témoins, de sorte que nous nous trouvons en présence d'un Q. R. voisin de l'unité (1).

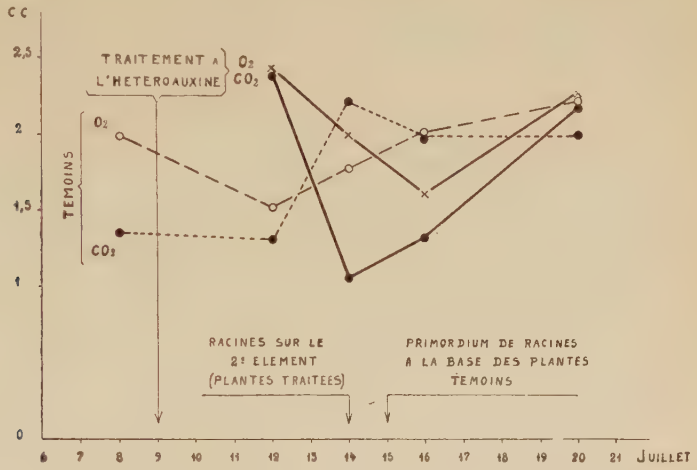


FIG. 35. — Diagramme de l'évolution des échanges gazeux respiratoires, exprimés en c. c. de CO_2 et de O_2 par gr., sec, h., au cours de la rhizogenèse, mesurés dans les tissus du 2e élément de boutures de *Coleus* traités à l'hétéroauxine.

En somme, nous retiendrons de cette expérience préliminaire :

1° Que l'hétéroauxine a pour effet d'augmenter temporairement l'intensité des oxydations cellulaires dans les tissus du 2e élément de tige. Nous ne savons pas encore combien de temps peut durer cette action activante à partir du moment du traitement. Le fait certain est qu'ici cette augmentation est manifeste après 3 jours. Nous confirmons les résultats de divers auteurs (17, 30, 31, 38 — 1938, 1938, 1939, 1938) qui ont eux aussi observé cette activation métabolique. Ils l'ont décrite beaucoup plus intense (environ 2 fois celle des contrôles correspondants), mais tout de suite après l'administration de l'hétéroauxine. Dès lors nous pourrions peut-être accepter de considérer que dans nos essais l'activation a été comme ailleurs, considérable tout de suite après le contact avec l'hétéroauxine et qu'elle est encore de 2,39 CO^2, 2,41 O^2 après 3 jours. Cette activation des oxydations cellulaires coïncide avec le déclanchement des mitoses qui, sous l'influence de l'hétéroauxine, se déroulent dans les tissus du 2e élément (cambium et cellules immédiatement voisines des massifs du phloème).

2° Que, après cette activation du métabolisme, se présente une dépression des intensités respiratoires se marquant plus fortement pour le CO^2 que pour l'O^2 : QR = 0,55. Nous ne pouvons encore décider en toute certitude quelle est la cause

(1) Nous avons dû interrompre brusquement cette série d'expériences par suite de notre appel sous les drapeaux.

du phénomène. Il est cependant possible que la dépression soit due à une insuffisance d'arrivée de matériel métabolique par rapport à la brusque augmentation des oxydations. L'action directe de l'hétéroauxine pourrait en être responsable, mais aussi les nécessités résultant de la constitution et de la poussée des primordium radiculaires qui apparaissent à ce moment.

Résumé et Conclusions

Nous avons consacré une étude approfondie des phénomènes de formation de racines sous l'influence de l'hétéroauxine en utilisant volontairement le matériel qui a servi à de nombreux auteurs pour affirmer le rôle direct de l'hétéroauxine dans ces phénomènes. Nous avons eu à notre disposition *Coleus Blumei*, var. *Triomphe de Luxembourg* (Hybride).

A cet effet, nous avons entrepris une multiplication préalable de plus de 1000 boutures qui furent toutes cultivées dans le même milieu et qui ont eu comme point de départ des plantes spécialement sélectionnées quant à une production comparable de racines à la base.

Ces boutures ont été préparées de la même manière. Elles ont à peu de chose près la même longueur et comprennent le même nombre de nœuds et d'entre-nœuds. Pour faciliter l'expression, chaque paire de feuilles et l'entre-nœud qui lui est inférieur ont été nommés « élément ». Les boutures ont toutes été constituées au départ de 6 ou 7 éléments, dont le n° 1, au sommet, est composé de la pousse terminale avec les quelques nœuds et entre-nœuds non encore normalement développés. Au fur et à mesure de la croissance, les éléments s'ajoutent les uns aux autres.

Le 2e élément, par exemple, devient le 3e, puis le 4e. Parallèlement, au sein des tissus de ce deuxième élément, se produisent des transformations anatomiques qui procèdent du développement normal.

Nous avons entrepris l'étude anatomique de ces modifications de structure car l'action de l'hétéroauxine sur la tige ne pourra être interprétée que par rapport à ces changements normaux.

Nous avons constaté différents faits :

1° Chaque élément de tige normal de *Coleus* correspond à un stade bien déterminé de l'évolution des tissus marqué par les étapes de la différenciation vasculaire.

2° Le troisième élément laisse voir un début de formation du cambium interfasciculaire.

3° Avant d'être à ce stade un élément de tige est incapable de former des racines.

4° Les racines peuvent donc apparaître dans le 3e élément qui a terminé sa croissance et qui se trouve au premier stade de différenciation du cambium interfasciculaire.

5° Les racines naissent à partir de petites masses cellulaires qui se constituent normalement dans le troisième élément au contact du cambium et du phloème.

6° L'action de l'hétéroauxine (pâte à la lanoline 3 %) appliquée en forte concentration sur le 2e élément de tige de *Coleus* modifie la structure de cet élément de la façon suivante :

a) l'évolution du cambium est hâtée,

b) une importance considérable est donnée aux petites masses de cellules qui normalement ne commencent à se former que dans le 3e élément.

c) les masses cellulaires nouvellement apparues n'évoluent pas nécessairement tout de suite en une différenciation de méristèmes radiculaires.

7° L'action de l'hétéroauxine appliquée (comparativement à 6°) en solution à 0,002 % à la base de l'hypocotyle de *Impatiens Balsamine* :

a) produit au sommet de l'hypocotyle, amputé des cotylédons, un renflement de tissus en forme de massue.

b) un début de différenciation vasculaire, trachées, etc.

c) aucune différenciation d'organe.

8° Des conclusions 6° et 7°, nous tirons le fait que l'hétéroauxine agit sur les tissus de *Coleus* comme un activateur et un amplificateur de processus qui se seraient produit normalement plus tard : apparition prématurée et mitoses du cambium interfasciculaire, apparition hâtée de certains massifs radiculaires et augmentation de leur volume ; mais elle ne peut être considérée comme le facteur direct de la constitution d'organes ayant une structure de racines.

9° Dans certaines circonstances, l'hétéroauxine produit par contact direct une prolifération des parenchymes des racines formées et donne à l'ensemble l'aspect temporaire d'un pseudo-cal ; elle inhibe l'allongement des racines dont elle a provoqué l'apparition tant que ces racines sont en contact avec la substance.

10° Les boutures de 6 éléments cultivés à la lumière dans des conditions définies dans le texte et traitées par une pâte à 3 % d'hétéroauxine sur le 2e élément forment sur celui-ci des racines dont le nombre est en relation avec le nombre de feuilles laissées sur la bouture. Après 21 jours : 0 feuille 54 racines — 1 feuille 66 racines — 2 feuilles 87 racines.

11° Il est curieux de constater qu'au début (après 9 jours) le nombre des racines formées sur le 2e élément est le même dans les 3 cas, environ 50 racines. Ce fait rend pertinente l'hypothèse qu'il existe dans les boutures au départ de l'expérience une certaine quantité limitée d'éléments utilisés à titre égal pour la formation des premières racines (un certain potentiel radiculaire). Après 9 jours les différences se marquent au prorata de l'activité des feuilles à la lumière.

12° L'administration de saccharose à 1 1/2% élimine l'influence quant à la déficience de sucre de l'amputation d'un nombre de feuilles plus ou moins grand.

Le saccharose augmente la production des racines à titre égal au début pour les boutures à une feuille et pour celles sans feuille ; puis il augmente cette production

à l'avantage des boutures à une feuille. Cette constatation nous suggère que la feuille apporte autre chose qu'une simple quantité de sucre puisque l'expérience est menée en présence d'un excès de saccharose.

13° L'étude de la longueur des racines montre que leur allongement n'est possible, même en présence d'un excès de sucre, qu'à la condition qu'il y ait au moins une feuille présente. Le meilleur résultat de nos essais est obtenu quand il y a les deux feuilles au lieu d'une. L'apport des feuilles, indispensable à l'allongement des racines, est probablement la vitamine B_1 d'après Bonner et R. et M. Bouillenne.

14° Le potentiel radiculaire possédé par les boutures, au moment de l'application d'hétéroauxine sur le 2e élément de tige, est diminué partiellement par le processus d'inanition précédent la mise en expérience. Il consiste dans le maintien des boutures pendant 12 jours à l'obscurité en présence de sucre pendant au moins les 4 derniers jours. Ensuite remises à la lumière, les boutures avec 2 feuilles donnent 40 racines au lieu de 63 racines portées par les témoins non inanitiés.

15° Lorsqu'après avoir subi le processus d'inanition les boutures sont laissées *à l'obscurité* en présence de sucre, elles produisent un nombre minimum de racines (12) sous l'action de l'hétéroauxine.

16° *A la lumière* les plantes inanitiées en présence de sucre constituent de novo dans leurs feuilles des produits qui ne se forment pas à l'obscurité. Il en résulte une formation de racines appréciable.

17° L'action simultanée de l'hétéroauxine sur le 2e élément (avec pâte lanoline 3%,) et à la base (avec solution diluée) montre qu'il se produit après une vingtaine de jours en présence de sucre, ou bien de sucre et d'acides aminés, une diminution du nombre de racines formées aux deux endroits d'application. Cette diminution ne peut être due à une insuffisance de carbohydrates ou d'acides aminés. Ce fait confirme l'hypothèse de Went et de ses collaborateurs qui postulent une mobilisation du matériel nécessaire à la constitution des racines, sous l'influence de l'hétéroauxine.

18° L'hétéroauxine appliquée en pâte à la lanoline à 3 % sur le deuxième élément de tige, produit dans les tissus intéressés par les modifications anatomiques décrites par nous une augmentation temporaire des intensités respiratoires suivie d'une profonde dépression.

En résumé, ce travail met en évidence divers points : bien que le matériel (boutures de *Coleus*) réagisse fortement à l'action de l'hétéroauxine et produise un grand nombre de racines, il révèle que le nombre des racines formées est sous la dépendance de la présence de feuilles à la lumière et se manifeste au prorata du nombre de feuilles laissées ;

qu'au début de l'expérience le nombre de racines est le même dans les boutures sans feuille et celles avec feuilles, ce qui peut ne s'expliquer que par l'existence dans les tissus de la tige d'un potentiel de formation radiculaire provenant des activités foliaires immédiatement antérieures à l'expérience ;

que ce potentiel est diminué fortement par le processus d'inanition utilisé par

Bouillenne pour préparer le matériel servant de « root test » chez *Impatiens Balsamina*.

que les plantes inanitiées, maintenues à l'obscurité après avoir reçu le traitement à l'hétéroauxine ne réagissent à peu près plus à cette substance par une prolifération radiculaire (même en présence de saccharose).

Cette constatation implique nécessairement : que l'hétéroauxine n'est pas le seul facteur spécifique de la néoformation des racines sur les tiges. Comme les expériences sont faites comparativement en présence d'un excès de saccharose et d'acides aminés, le facteur limitant l'action de l'hétéroauxine n'est pas de nature métabolique.

que l'étude du métabolisme des tissus traités à l'hétéroauxine révèle une augmentation des oxydations cellulaires suivie d'une dépression.

que l'étude anatomique montre l'action activante et amplificatrice de l'hétéroauxine, à forte concentration, sur les divisions cellulaires à partir des tissus du cambium et des tissus du phloème proches du cambium interfasciculaire. Mais il est clair dans nos observations que la différenciation des masses de cellules formées en structure typique de racines ne suit pas nécessairement l'apparition de ces masses.

La différenciation de celles-ci en racines est un autre phénomène nécessitant l'intervention d'un facteur d'organisation qui dépend des activités des feuilles à la lumière et qui fut appelé d'après Bouillenne et Went (1933), Rhizocaline.

Ce complexe substantiel entre en combinaison avec l'hétéroauxine et est mobilisé par celle-ci vers les endroits d'application.

BIBLIOGRAPHIE

1. Beadle, G. W, and Ephrussi, B. *Development of eye colors in Drosophila. Transplantation experiments with suppressor of vermillon.* (Pro. Nat. Acad. Sc. U. S. A. **22**, 9, 536, 1936).
2. — *Development of eye colors in Drosophila : The mutants bright and mahogany.* (Amer. Nat. **71**, 732, 91-95, 1937).
3. Bonner D. M. *Activity of the potassium salt of indole-3 acetic acid, in the Avena test.* (Bot. Gaz. **99**, **2**, 408-411, 1937).
4. Bonner J. *Vitamine B_1 a growth factor for higher plant.* (Science **84**, 2198, 183. 1937).
5. — *The role of Vitamin in Plant Development.* (Bot. Review, **3**, 616-640, 1937).
6. — and Addicott Fr. *Cultivation in vitro of excised Pea roots.* (The Bot. Gaz. **99**, 1, 144-170, 1937).
7. Bouillenne R. *Anatomical material for the study of growth differentiation in higher plants.* (Plant Physiol. **3**, 459-471, 1928).
8. Bouillenne R. et Went F. W. *Recher. expér. sur la néof. de racines dans les plantules et les boutures des plantes supérieures (substances formatrices de racines).* (Ann. Jard. Bot. Buitenzorg, **43**, 1933).
9. Bouillenne, R. *L'action des phytohormones, sur la croissance, la division des cellules et l'organogénèse. Etude et Recherches sur les Phytohormones* (Inst. Intern. de Coop. Intellectuelle, Paris, 1938.)
10. Bouillenne, R. et Demaret, F. *Echanges respiratoires en fonction de l'hydratation des tubercules mâles et femelles de Bryonia dioïca, L., au cours de leur cycle végétatif.* (Ann. de Physiologie, (Paris), Tome XI, nº 5, 1935).
11. Bouillenne, R. *L'action des phytohormones sur la croissance, la division des cellules et l'organogénèse.* (Bull. Soc. Roy. Sc. Liège, **11**, 334-344, 1937).
12. Bouillenne, R. et M. *Contribution à l'étude des Facteurs de la Néoformation et de la Croissance des Racines.* (Bull. Soc. Roy. Bot. Belge, **71**, 1, 43-67, 1938).
13. Bouillenne, R. et Bouillenne-Walrand M., *Teneur en auxines des plantules et hypocotyles inanitiés de Impatiens Balsamina, en rapport avec l'organogenèse des racines.* (Bul Ac. Roy. Sc. Belg., **25** (5me série), 413, 1939).
14. Bouillenne-Walrand M., et Prevot, P. *Sur l'utilisation de la méthode manométrique de Dixon et Keilin pour la mesure de la respiration cellulaire.* (Bull. Soc. Royale des Sc. Liège, nº 12, 1937).

14bis. Boysen-Jensen, P. *Growth hormones in Plants.* Translated and revised by Cj. S. Avery J. and Burhkolder P. R. (Ne-York, 1936).

15. Cooper, W. C. *Hormones in relation to root formation on stem cuttings.* (Plant. Physiol., **10**, 789-794, 1936).

16. Cooper, W. C. *Hormones and root formation.* (Bot. Gaz., **99**, 3, 599-615, 1938).
17. Czaja, A. Th. *Der Einfluss der Streckungswuchstoffe auf die Massen verteilung in der Pflanze.* (Planta, **28** (12) : 354-358, 1938).
18. Delarge, L. *Culture des Méristèmes in vitro.* (Bull. Soc. Roy. Belgique, **71**, (2), 1939).
19. Dixon et Keylin. (Biochem. J. **27**, 86, 1933).
20. Gravis, A. *Fixation au porte objet des coupes faites dans la celloïdine.* (Bull. Soc. Belge de microscopie, t. XXIII, 1897).
21. Harrisson, B. *Histological responses of Iresine Lindenei to indole-acetic acid.* (Bot. Gaz. **99**, 2, 301-338, 1937).
22. Laibach, F. *Versuche mit Wuchsstoffpaste.* (Ber. d. Deutsch. Bot. Gesel. **41**, 386-392, 1933).
23. — *Über die Auslösung von Kallus und Wurzelbildung durch B-Indolylessigsäure.* (Ber. d. Deutsch. Bot. Gesel. **53**, 359-364, 1935).
24. Laibach, F. und Fischnich, O. *Kunstliche Wurzelneubildung mittels Wuchstoffpaste.* (Ber. d. Deutsch. Bot. Gesel., **53**, 528-539, 1935).
25. Laibach, F. und Fischnich, O. *Über eine Testmethode zur prüfung der Kallusbildende wirkung von Wuchstoffe Pasten.* (Ber. d. Deutsch. Ges. **53**, 4, 469-477, 1935).
26. Lek (Van der) H. A. A. *Over de wortelvorming van hartige stekken.* (Mededeel. van de Landbouwhoogeschool te Wageningen, **28**, 1925).
27. Lek (Van der), H. A. A. *On the influence of leaves and buds on regeneration processes in woody cuttings.* (Fifth. internat. Congress. Cambridge, p. 274, 1930).
28. Lysenko. *Fundamental results of research on vernalization of agricultural plants.* Bull. Jarovizacii. Nº 4, 1-57. Odessa, 1932.
Physiology of plant developement in breeding work. Semenovadstro. nº 2, 20-31, 1934.
28bis. Moureau, J., *Contribution à l'étude des facteurs organogénétiques de la néoformation des racines.* (Bull. Soc. Roy. Sc. Liége, (12), 1939).
28ter. — , *Etude de l'action de l'hétéroauxine chez* « Coleus », *en rapport avec le nombre des feuilles et l'action de la lumière* (Bul. Soc. Roy. Sc. Liége, (2), 1940).
29. Needham, D. N. and Waddington. *Studies on the nature of the amphibien organization centre.* II. *Induction by synthetic polycyclic hydrocarbons.* (Proc. Roy. Soc. Bot. **117**, 310-317 ; 1935).
30. Neil W. Stuart. *Nitrogen and Carbohydrate metabolism of Kydney Bean Cuttings as affected by treatment with indole acetic acid.* (Bot. Gaz. **100**. (2) 298-232, 1938).
31. Prevot, P. *La néoformation des bourgeons chez les végétaux.* (Mém. Soc. Roy. des Sc. de Liège, 4e S. Tome III. 1939).
32. Rogenhofer, G. *Wirkung von Wuchsstoffen auf die Kallusbildung bei Holzstecklingen.* (Ak. der Wiss. Wien). I. **145**. 3-4, 81-99, 1936
II. **145**. 5-6, 179-195, 1936).
33. Snow, R. *Growth regulators in plants.* (New Phytol. **31**, 336-353, 1932).
34. — *The nature of the cambial stimulus.* (New Phytol. **32**, 288-296, 1933).
35. — *Activation of cambial growth by pure hormones.* (I Nature **135**, 876. 1935 II. New Phytol. **34**, 347-360, 1935).
36. Söding, H. *Über den Einfluss von Wuchsstoff auf das Dickenwachstum der Bäume.* (Ber. d. Deutsch. Bot. Gesel. **54**, 291-304, 1935.)

37. Speehman. *Neue Arbeiten über Organization in der tierische-Entwicklung.* (Natur-Wissenschaften **15**, (48/49) : 946-951, 1927).
38. Taylor, R. Alexander. *Carbohydrates of Bean plants after treatment with indole-3-acetic acid.* (Plant. Physiol. **13**, (4), 845-858, 1938).
39. Thimann, K. V., and Koepfli, J. B. *Identity of the growth promoting and root-forming substances of plants.* (Nature **135**, 101, 1935.)
40. Went, F. W. *Wuchsstoff und Wachstum.* (Rec. Trav. Bot. Neerl. 25, 1-116, 1928).
41. — Went, F. W. *On a substance causing root formation* (Proc. Kn. Akad. Wetensch. Amsterdam. **32**, 35-39. 1929).
42. *A testmethode for rhizocaline, the root forming substance.* (Proc. Kon. Akad. Wetensch. Amsterdam **37** (445-455), 1934).
43.— *Hormones involved in root formation* (Proc. 6 th. Int. Bot. Congr. **2**, 267-269, 1935).
44.— *Auxin the plant growth hormone* (Bot. Rev., **1**, 162-182, 1935).
45.— *Transplantation experiments with Peas.* (Amer. J. of. Bot. **25**, 1, 44-55, 1938).
46. — *Specific factors other than auxin affecting growth and root formation.* (Plant. Physiol., **13**, 55-80, 1938).
47. — And Thimann, K., *Phytohormones* (Mc. Millan, New York, 1937).

Extrait du *Bulletin de la Société royale des Sciences de Liège*,
Séance du 17 décembre 1942. — N° 12.

Action des hormones sur la croissance de la betterave sucrière,

par Raymond BOUILLENNE, J. de ROUBAIX et O. LAZAR.

Dans le cadre des recherches que nous avons entreprises sur le cycle biologique de la betterave sucrière, A. Willam (1) (1939) s'est chargé de l'étude préliminaire de l'action de l'hétéro-auxine et de la vitamine B_1 sur les plantules au stade des deux premières feuilles et au stade de six feuilles (2). Cet auteur a montré que lorsqu'elles sont administrées de manière permanente dans la solution des cultures aqueuses où les racines plongent et sont aérées par un barbottage d'air, ces deux substances accroissent considérablement la taille des plantes (bouquet foliaire et racine) ainsi que la teneur en sucre des racines.

Les résultats intéressants obtenus par cet auteur nous ont engagés à entreprendre systématiquement plusieurs séries d'expériences sur l'action des hormones.

Ayant mis au point une technique de culture complète de la Betterave sucrière (de la graine à la graine) en milieu main-

(1) A. Willam, Action des phytohormones sur le développement des plantules de Betterave sucrière (*La Sucrerie belge*, 1er août 1939).

(2) Pour la définition de ces stades, voir : R. Bouillenne, P. G. Kronacher et J. de Roubaix, Étapes morphologiques et chimiques dans le cycle végétatif de la Betterave sucrière (*Publ. Inst. belg. Amél. Bett.*, n° 3, 75 pages, 1940).

tenu constant et en éclairage artificiel (selon les cas 15.000, 25.000 et 35.000 lux) dans une atmosphère conditionnée, nous avons pu comparer parallèllement les caractéristiques de végétation des plantes standards à celles des plantes traitées se trouvant dans des conditions identiques. Il fut donc possible de repérer l'influence du traitement par les hormones en dehors de toute variation du milieu. Il fut possible également de comparer ces essais à ceux qui ont été réalisés dans les champs et faire la part du rôle des facteurs extérieurs (sol, précipitations atmosphériques, température, etc.) dont les fluctuations à l'air libre ont une influence incontestable, très difficile à préciser.

Nous avons expérimenté l'action de plusieurs substances à diverses concentrations, soit seules, soit en mélange : hétéroauxine, adénine, aneurine, acide nicotinique, acide naphtylacétique.

La manière d'administrer ces substances nécessite quelques mises au point préliminaires.

Dans les expériences de Willam, les plantes plongent continuellement dans la solution active. Cela implique le renouvellement coûteux de très grandes quantités de substances nutritives et de longues manipulations. Dans ces conditions, Willam a réussi à poursuivre ses observations jusqu'au stade de 16 feuilles environ, stade qui a révélé un intéressant accroissement de vigueur et de teneur en sucre. Mais nous considérons qu'il est nécessaire de poursuivre ce genre d'expérience plus longtemps et d'atteindre, en présence d'hormones, le stade que nous avons désigné sous le terme de « Maturation » (1) et à la fin duquel se fait la récolte.

De plus, comme il est bien évident que ce procédé restera toujours du domaine du laboratoire, certains auteurs ont tenté de traiter directement les graines ou les fruits (pour les Betteraves, les glomérules) au départ, avant la germination. Cette dernière technique est beaucoup plus simple et plus pratique: mais les résultats qu'elle a permis d'obtenir ne sont pas concordants.

Il nous paraît important d'exposer à ce sujet quelques considérations qui ont orienté nos propres travaux.

Tout d'abord, nous avons abandonné le mode d'application qui consiste à saupoudrer les glomérules avec une poudre inerte dans laquelle les substances ont été incorporées à l'état sec. Nous acceptons comme bien établi (L. Barton, 1940) (2) que cette

(1) R. Bouillenne, P. G. Kronacher et J. de Roubaix, *loc. cit.*,
(2) L. Barton, *Contribut. Boyce Thompson Inst.*, n° 3, 1940.

méthode ne produit aucune action et nous pensons d'ailleurs que physiologiquement il ne peut en être autrement; car, à notre avis, les embryons secs, en état de vie latente, ne peuvent être sensibles aux hormones et lorsque, réveillés par le processus normal de la germination, ils deviennent susceptibles d'y répondre, les substances actives ont eu le temps de s'altérer ou d'être entraînées au loin.

Nous avons retenu le mode d'application par trempage des glomérules dans des solutions appropriées; mais ici nous avons constaté que les auteurs ont directement plongé les graines ou les fruits dans les solutions et ensuite procédé à la mise en germination.

Les divers travaux sur les hormones réalisés par l'un de nous et par ses collaborateurs (1) nous ont engagés à provoquer d'abord un début de germination avant de faire le trempage dans les solutions expérimentales. Dans ces conditions, les embryons réveillés peuvent utiliser à leur profit l'éventuelle action des hormones. Ce réveil préalable est produit par imbibition des glomérules dans de l'eau. Nous avons choisi de l'eau bidistillée (sans trace de cuivre) afin de ne pas faire intervenir l'influence possible de certains ions dont l'action pourrait modifier nos résultats.

D'une part, nous avons pris soin de ne pas immerger profondément les glomérules dans l'eau où les solutions de trempage pour ne pas entraver la respiration des embryons et, d'autre part, en ce qui concerne le déclanchement de la germination par l'eau, nous avons tenu à renouveler celle-ci. Dans certaines expériences, nous avons même établi un courant d'eau permanent de manière à pouvoir vérifier les résultats des expériences de P. Froschel (1939 et suiv.) (2) sur l'influence exercée par des substances freinantes se trouvant dans les graines ou les fruits de diverses espèces et ralentissant la germination. Ces substances hydro-solubles s'éliminent plus ou moins vite à l'état de nature. Une extraction rapide de ces dernières permet aux embryons de se développer avec une vitesse considérable, comme l'a montré Tolmatchew (1940) (3) et cela d'autant plus

(1) R. Bouillenne, Conférence sur les Phytohormones (*C. R. Congrès As. Fr. Av. Sciences*, Liége, 1939).

(2) P. Froschel, Onderzoekingen over de physiologie van de Kieming : I. Remstoffen (*Natuurwet. Tijdsch.*, 1939, Gent).

(3) J. Tolmatchew, La culture de la Betterave (*Inst. Rech. scient. Ind sucr. Ukraine*, 1940, I, Kiev).

qu'il apparaît (Van Laer et Froschel, 1942) (1) que ces substances qui, à fortes doses, se comportent comme des paralysants de la germination, agissent au contraire comme des accélérateurs à des doses infinitésimales.

Nos diverses expériences ont été réalisées au cours des années 1938, 1939, 1940, 1941 et 1942 sur un matériel appartenant à la variété Hilleshög.

I. — SUR CHAMP D'ESSAIS.

A. — Arrosage des plantes.

En 1938, en complément des recherches de Willam et sur ce point avec sa collaboration, nous avons traité des betteraves à des stades plus avancés que ceux dont il s'est occupé, c'est-à-dire à partir de l'époque du démariage au delà du stade de 16 feuilles. Ces betteraves étaient cultivées en plein champ à Gossoncourt (2). Elles furent arrosées complètement (feuilles et racines) avec des solutions d'hétéro-auxine à 0.2 mgr. $^0/_{00}$, de vitamine B_1 à 1.0 mgr. $^0/_{00}$ et d'acide nicotinique 0.2 mgr. $^0/_{00}$ — 4 fois à 15/20 jours d'intervalle, 500 c.c. de solution par plante, — des témoins recevaient la même quantité d'eau distillée.

En fin de végétation, aucune différence ne s'est marquée par rapport au témoin dans la vigueur des plantes, pas plus que dans les caractéristiques du poids des feuilles, des racines, de la teneur en sucre. Ce résultat négatif est dû, selon nous, au fait que les concentrations utilisées étaient beaucoup trop faibles pour une expérience de plein champ.

B. — Trempage des glomérules.

Une première application de la méthode du trempage avec réveil préalable de l'embryon pendant six heures a été faite en 1941 sur un champ d'essais de l'Institut belge pour l'Amélioration de la Betterave. Ce terrain comprenait six lots répartis comme suit :

Lot I. Témoin : glomérules trempés dans l'eau durant 18 heures avec solution Hoagland PN diluée et modifiée.

---

(1) M. Van Laer et P. Froschel, Les substances freinantes et leur rôle dans la germination de l'Orge (*Inst. Nat. Ind ferment.*, nos 5 et 6, 1942, Bruxelles).

(2) Sur un terrain qui nous fut obligeamment prêté par l'Institut belge pour l'Amélioration de la Betterave dont le personnel nous a aidé à l'occasion de la récolte.

Lot II. Glomérules trempés dans l'eau durant 6 heures, puis immergés dans 1/10 solution d'hétéro-auxine à 37,5 mgr. °/₀₀ pendant 12 heures.

Lot III. Idem, mais concentration double d'hétéro-auxine.

Lot IV. Glomérules trempés dans l'eau durant 6 heures, puis immergés pendant 12 heures dans une solution d'adénine à 1 mgr. °/₀₀.

Lot V. Glomérules trempés dans l'eau durant 6 heures, puis immergés pendant 12 heures dans une solution composée d'adénine à 1 mgr. °/₀₀, de vitamine B_1 à 1 mgr. °/₀₀ et d'acide nicotinique à 1 mgr. °/₀₀.

Lot VI. Idem V, mais avec ajoute de 37,5 mgr. d'hétéro-auxine.

L'installation du champ d'essais a été réalisée par le personnel de l'Institut belge pour l'Amélioration de la Betterave. Les analyses ont été effectuées par M. Simon, ingénieur. Nous désirons remercier très vivement M. Decoux, directeur, ainsi que ses collaborateurs MM. Vanderwaeren et Simon.

Les résultats détaillés de ce champ d'essais seront publiés par ceux-ci dans les publications de l'Institut belge pour l'Amélioration de la Betterave.

L'examen du tableau II nous révèle que, si le traitement que nous avons réalisé aux phytohormones s'avère favorable au développement du bouquet foliaire et, dans une moindre mesure, à celui de la racine, il ne modifie guère la richesse en saccharine de la plante traitée.

Le mélange adénine, vitamine B_1, acide nicotinique pourtant produit une augmentation de 5,49 % du rendement en sucre à l'hectare par rapport aux glomérules simplement imbibés d'eau.

Ces résultats confirment ceux obtenus par Zika, en 1941 (1) qui a utilisé, d'une manière générale, de beaucoup plus fortes concentrations que nous, et qui de plus, calcule ses résultats, non par rapport aux glomérules imbibés et réveillés, mais par rapport aux glomérules secs (cas que nous avons systématiquement écarté de cet essai).

II. — EN MILIEU CONDITIONNE CONSTANT.

A. — Lavage puis trempage des glomérules dans les solutions d'hormones.

Dans le courant de l'hiver 1941-1942, nous avons mené, au laboratoire, des recherches spéciales sur l'application des hormones de croissance à des betteraves cultivées en solution nutritive, en milieu artificiel constant et avec un éclairage de

(1) ZIKA, Die Hormonisierung des Zuckerrübe (*Zeitsch. f. die Zuckerindustrie in Böhmen u. Mähren*, n° 45, 1941).

TABEAU I.

Résultats du champ d'essais sur Phytohormones réalisé par trempage des glomérules.

N°s des objets	Traitement des graines	Montées au 16/8	Rendement en racines		Richesse saccharine		Rendement en sucre		Rendement en feuilles et collets
			kg. ha	± e	%	± e	kg. ha	± e	kg. ha
1	Témoin. Trempage dans solution nutritive de Hoagland 1 10, durant 18 h.	0	35.247	3.029	17.90	0.32	6.365	669	26.167
2	*a*) Trempage dans solution Hoagland 1/10, durant 6 h.	0	36.150	2.697	17.68	0.33	6.451	609	28.500
	b) Trempage dans hétéroauxine 37,5 mgr. 0/00, durant 12 h.								
3	*a*) Idem.	0	35.850	2.102	**18.03**	0.28	6.503	476	29.917
	b) Trempage dans hétéroauxine 75,0 mgr. 0/00, durant 12 h.								
4	*a*) Idem.	0	35.950	2.250	**18.03**	0.21	6.511	478	26.583
	b) Trempage dans adénine 1 mgr. 0/00, durant 12 h.								
5	*a*) Idem.	0	**37.250**	2.252	17.95	0.17	**6.715**	456	**30.333**
	b) Trempage de 12 h. dans solution comprenant : adénine 1 mgr. 0/00, aneurine (ou Vitamine B1) 1 mgr. 0/00, acide nicotinique 1 mgr. 0/00.								
6	*a*) Idem.	0	36.817	2.187	17.99	0.18	6.656	456	28.167
	b) Trempage de 12 h. dans solution comprenant : hétéroauxine 37,5 mgr. 0/00, adénine 1 mgr. 0/00, aneurine (ou Vitamine B1) 1 mgr. 0/00, acide nicotinique 1 mgr. 0/00.								

15.000 lux jusqu'au stade de 6 feuilles et 25.000 lux jusqu'à la fin (1).

Les glomérules ont été traités par immersion dans des solutions hormonales plus concentrées que celles utilisées au cours de l'essai décrit ci-dessus; en outre, la phase du lavage à l'eau a été prolongée douze heures à l'eau courante. Ce lavage est suivi d'un égouttage à l'air libre, à la température de 20°C durant cinquante heures, c'est-à-dire jusqu'au réveil de l'embryon, caractérisé par un léger pointement de la radicule; à ce moment seulement les glomérules ont été immergés dans les solutions d'hormones.

Dans cette expérience, un témoin à glomérules non imbibés et non lavés a été réalisé.

Les différents lots composant cet essai se répartissent comme suit :

Lot I. Témoin : glomérules secs (100 plantes).

Lot II. Témoin : glomérules lavés à l'eau durant 12 heures, puis égouttés pendant 50 heures avant le semis (100 plantes).

Lot III. *a*) 12 heures de lavage; *b*) 50 heures d'égouttage; *c*) immersion des glomérules dans une solution d'hétéro-auxine à 100 mgr. °/$_{oo}$ durant 12 heures (100 plantes).

Lot IV. *a*) et *b*) idem; *c*) immersion dans solution d'hétéro-auxine à 200 mgr. °/$_{oo}$ durant 12 heures (100 plantes).

Lot V. *a*) 12 heures de lavage à l'eau; *b*) immersion, sans égouttage préalable, dans une solution d'acide naphtylacétique à 150 mgr. °/$_{oo}$ (100 plantes).

Lot VI. *a*) et *b*) idem lots III et IV; *c*) immersion durant 12 heures dans une solution composée de : adénine à 3 mgr. °/$_{oo}$, vitamine B_1 à 3 mgr. °/$_{oo}$, acide nicotinique à 3 mgr. °/$_{oo}$ (100 plantes).

Lot VII. *a*) et *b*) idem; *c*) immersion durant 12 heures dans la même solution avec ajoute d'hétéro-auxine à 200 mgr. °/$_{oo}$ (100 plantes).

Nous avons examiné les betteraves appartenant à ces divers lots au fur et à mesure de la croissance, en notant périodiquement pour chaque plante, le nombre de feuilles, la hauteur et

(1) Les conditions de cette culture sont les suivantes :

Milieu nutritif : solution minérale de Hoagland PN légèrement modifiée

Milieu nutritif : solution minérale de Hoagland légèrement modifiée afin de maintenir le pH aux environs de 7.

Température : 12° C. durant la germination, 15 à 20° C. ensuite.

Eclairement artificiel : au moyen de lampes à filaments de 500 watts, immergées et séparées des cultures par un écran d'eau courante de 8 cm.

Durée d'éclairement : de 14 à 16 heures par jour selon les mois.

Humidité atmosphérique : 60 à 70 % d'humidité relative durant l'éclairement, 80 à 90 % durant l'obscurité.

Aération : permanente au niveau des cultures, au moyen d'un ventilateur.

le poids du bouquet foliaire, le diamètre et le poids de la racine, enfin la teneur en matière sèche et les sucres totaux solubles de la racine. L'expérience a duré 175 jours. Les résultats sont indiqués au tableau II.

Le nombre total des feuilles produites au cours de la végétation s'est montré le même pour les deux types de témoins, que les glomérules aient été lavés ou non. Pour les plantes traitées, une légère dépression dans ce nombre est notée quelles que soient les solutions de substances. Nous avons cependant remarqué le lot V (acide naphtyl-acétique) présente à partir de 125 jours le nombre de feuilles le plus bas. La hauteur du bouquet foliaire donne l'avantage au traitement à l'hétéro-auxine 100 mgrs. $^{0}/_{00}$. Tous les autres lots se comportent de manière analogue aux témoins. En ce qui concerne le poids du bouquet foliaire, les résultats sont les mêmes que pour la hauteur. Pourtant le mélange des diverses hormones (lot VI) marque nettement une influence favorable.

Le diamètre et le poids de la racine sont améliorés chez les plantes traitées par l'hétéro-auxine à la concentration 100 mgrs. par litre et chez celles soumises au mélange des quatre hormones. Par contre, l'hétéro-auxine à la concentration de 200 mgrs. par litre s'avère clairement inhibitrice.

TABLEAU II.

Evolution du développement de la Betterave en milieu conditionné artificiel, constant (25.000 Lux); glomérules lavés, germés et traités.

	Nombre de Feuilles	Hauteur des Feuilles en millimètres	Poids du Bouquet Foliaire en grammes	Diamètre de la racine en millimètres	Poids de la racine en grammes	Matière sèche dans la racine % Frais	Sucres totaux solubles dans la racine % Frais
Lot I. Témoin : glomérules semés secs.							
après 65 jours	15	141	—	12.2	—	20.72	11.07
81 jours	24	201	—	33 6	—	15.01	9
108 jours	52	280	358	69.2	245	—	—
127 jours	64	293	464	85	403	—	
151 jours	86	323	604	96.6	543	—	—
172 jours	104	363	804	107	664	17.51	12.30
Lot II. Témoin : glomérules semés après lavage et début de germination.							
après 65 jours	16	148	—	12.4	—	19.81	8.40
81 jours	24	237	—	32.4	—	16.60	9.20
108 jours	48	325	301	56	164	—	—
127 jours	69	318	414	70	214	18.5	12.3
151 jours	81	340	624	102	636	20.18	12.7
172 jours	98	330	718	104	712	—	—

	Nombre de Feuilles	Hauteur des Feuilles en millimètres	Poidsdu Bouquet Foliaire en grammes	Diamètre de la racine en millimètre	Poids de la racine en grammes	Matière sèche dans la racine % Frais	Sucres totaux solubles dans la racine % Frais
Lot III. Glomérules lavés, germés et traités par hétéro-auxine à 100 mgr. °/₀₀.							
après 65 jours	15	127	—	9.4	—	18.96	8.75
81 jours	24	247	—	35.1	—	—	—
108 jours	30	340	347	73	230	—	—
127 jours	51	347	493	84.5	337	—	—
151 jours	62	390	745	99.4	428	21.02	14.30
172 jours	78	480	1009	118	108	20.80	12.9
Lot IV. Glomérules lavés, germés et traités par hétéro-auxine à 200 mgr. °/₀₀.							
après 65 jours	14	143	—	9.2	—	17.34	6.76
81 jours	24	235	—	30.4	—	15.90	—
108 jours	41	343	310	52	160	—	—
127 jours	52	370	370	64	210	—	
151 jours	63	350	816	82	254	21.12	12.30
172 jours	85	325	862	90	458	23.73	13.9
Lot V. Glomérules lavés et traités par acide naphtylacétique à 150 mgr. °/₀₀.							
après 65 jours	15	141	—	11.3	—	17.80	8.85
81 jours	22	262	—	37.5	—	18.01	—
108 jours	42	295	366	71	234	—	—
127 jours	49	288	382	83	340	21.88	12.8
151 jours	58	317	635	96	365	21.38	13.6
172 jours	70	353	713	108	687	19.35	12.50
Lot VI. Glomérules lavés, germés et traités par adénine à 3 mgr. °/₀₀, vitamine B_1 à 3 mgr. °/₀₀, acide nicotinique à 3 mgr. °/₀₀.							
après 65 jours	16	140	—	13.5	—	18.88	10.87
81 jours	23	251	—	33.8	—	17.92	9.90
108 jours	48	310	321	63	187	—	—
127 jours	61	323	438	77	307	19.34	11.2
151 jours	80	305	518	100	572	19.53	13.05
172 jours	—	—	—	—	—	—	—
Lot VII. Glomérules lavés, germés et traités comme VI, + hétéro-auxine à 200 mgr. °/₀₀.							
après 65 jours	16	158	—	13.8	—	19.13	11.16
81 jours	23	265	—	34.9	—	17.40	9
108 jours	47	311	388	71.2	242	—	—
127 jours	58	338	536	84	422	20.45	12.1
151 jours	63	363	743	105	619	20.65	13.7
172 jours	78	305	942	116	878	21.54	12.80

Il est intéressant de noter que la différenciation des lots ne se manifeste qu'assez tardivement — 3 mois environ après le semis, c'est-à-dire lorsque les plantes ont atteint au moins le stade de 30 feuilles.

Les divers traitements n'influencent pas sensiblement le pourcentage en matière sèche et en sucres totaux solubles de la racine par rapport aux témoins, chez lesquels les glomérules semés secs ou imbibés ne manifestent pas de différences l'un vis-à-vis de l'autre.

La conclusion de cette longue expérience en milieu constant confirme celle obtenue sur champ d'essais en 1941.

L'adénine, l'aneurine et l'acide nicotinique mélangés, ainsi que l'hétéro-auxine à la dose de 100 mgrs. $^{0}/_{00}$, favorisent de manière appréciable le développement du bouquet foliaire et celui de la racine des betteraves sucrières. Mais, elle ne modifie pas le pourcentage en sucres totaux solubles. Pourtant, il doit résulter de l'augmentation du poids des racines une amélioration du rendement de la récolte.

B. — **Arrosage du méristème de la tige.**

Dans cette série, les glomérules n'ont subi aucun traitement: cette fois, c'est le méristème de la tige qui fut arrosé au moyen des diverses solutions hormonales à partir du stade de 6 feuilles, c'est-à-dire au début de l'*étape de Décortication*, deux ou quatre fois selon les lots; à une semaine d'intervalle, les méristèmes ont reçu à chaque arrosage 2 cm³ d'une solution d'aneurine, soit à 1 mgr. par litre, soit à 2 mgrs par litre.

Les cultures ont été réalisées en milieu artificiel sous 25.000 lux d'éclairement, selon la technique déjà décrite; elles ont duré six mois.

Voici la répartition des lots :

Lot I. Témoin : glomérules non traités, plantules non arrosées (100 plantes).

Lot II. Deux arrosages, de 2 cc. chacun, d'aneurine à 1 mgr. $^{0}/_{00}$ (100 plantes).

Lot III. Deux arrosages, de 2 cc. chacun, d'aneurine à 2 mgr. $^{0}/_{00}$ (100 plantes).

Lot IV. Quatre arrosages, de 2 cc. chacun, d'aneurine à 2 mgr. $^{0}/_{00}$ (100 plantes).

Lot V. Quatre arrosages, de 2 cc. chacun, d'aneurine à 1 mgr. $^{0}/_{00}$ (100 plantes).

Les plantes ont été examinées comme précédemment au double point de vue du développement des feuilles et des

racines, et de la teneur en sucres totaux solubles. Nous ne donnerons pas de chiffres ni de diagrammes, car les résultats démontrent que l'aneurine administrée directement sur les méristèmes ne produit aucune action. Dans cet essai, nous avions précisément choisi l'aneurine par suite de son rôle favorable démontré par A. Willam, dans le cas où elle est donnée dans la solution nutritive, où plongent les racines.

C. — **Lavage des glomérules, trempage de ceux-ci dans les solutions et arrosage du méristème.**

Au cours de cette nouvelle série, réalisée également en milieu artificiel constant sous 15.000 lux d'éclairement, nous avons appliqué les deux techniques de traitement : trempage des glomérules dans les solutions, arrosage du méristème et combinaison de ces deux traitements. Les glomérules ont été préalablement réveillés par lavage à l'eau distillée courante durant 24 heures, suivi de 60 heures d'égouttage et de germination en atmosphère humide.

L'imprégnation a été ensuite réalisée durant 12 heures dans la solution A, composée de

hétéro-auxine 50 mgr. $^0/_{00}$,
adénine 8 mgr. $^0/_{00}$,
aneurine 8 mgr. $^0/_{00}$,
acide nicotinique 8 mgr. $^0/_{00}$.

Cette combinaison de substances est la même que celle qui a donné les meilleurs résultats dans les expériences précédentes, mais la concentration en est plus élevée.

L'arrosage des plantules est fait au moyen de la solution B, composée de

adénine 4 mgr. $^0/_{00}$,
aneurine 4 mgr. $^0/_{00}$,
acide nicotinique 4 mgr. $^0/_{00}$.

Les différents lots se répartissent comme suit :

Lot I. Témoin : glomérules non traités, plantules non arrosées (100 plantes).

Lot II. Témoin : glomérules lavés à l'eau distillée courante durant 24 heures puis conservés en atmosphère humide pendant 60 heures pour obtenir un début de germination (100 plantes).

Lot III. Glomérules préparés selon II; mais non traités; deux arrosages des plantules à l'âge de 6 feuilles avec 2 cc. chaque fois, à une semaine d'intervalle, de la solution composée d'adénine à 4 mgr. $^0/_{00}$, aneurine à 4 mgr. $^0/_{00}$, acide nicotinique 4 4 mgr. $^0/_{00}$ (20 plantes).

Lot IV. Glomérules préparés selon II, puis imprégnés durant 12 heures au moyen de la solution A.
Plantules arrosées selon III avec la solution B (20 plantes).

Cette expérience a duré 175 jours. Les plantes des divers lots ont été examinées, mesurées, pesées, analysées progressivement au cours de la végétation. Les résultats figurent au tableau III et aux diagrammes I et II.

Le nombre de feuilles a augmenté très régulièrement et de manière identique chez les témoins et les lots traités. Les activités méristématiques de la tige ne sont donc nullement influencées par l'action des hormones, que celles-ci soient administrées aux glomérules au départ de la germination ou dans le bouquet foliaire. Si l'on trace le diagramme de la progression du nombre total des feuilles dans les divers lots, on obtient presque une ligne droite parfaite, sans à-coup, indiquant de manière impressionnante la régularité des fonctions de la tige édificatrice de feuilles dans nos conditions de culture. Cette dernière expérience est d'ailleurs remarquable par la réussite de la culture elle-même.

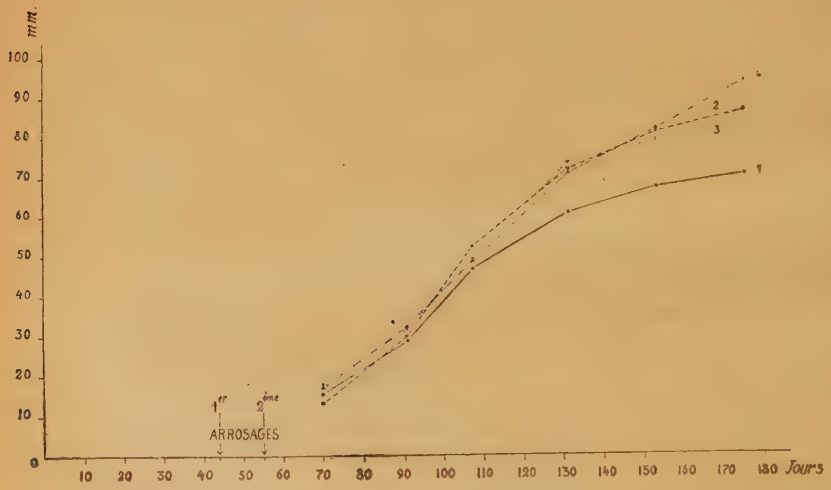


DIAGRAMME I.

Évolution du diamètre de la racine
au cours de la culture en milieu complètement artificiel et constant (éclairage 15.000 Lux).

1. Témoin sec (Lot I). — 2. Témoin lavé (Lot II). — 3. Glomérules lavés; plantules subissant deux arrosages (à l'âge de 6 feuilles) avec solution B (Lot III). — 4. Glomérules lavés et traités avec solution A; ensuite plantules arrosées avec solution B (Lot IV).

TABLEAU III.

Evolution du développement de la Betterave en milieu artificiel conditionné constant (15.000 Lux); traitement des glomérules et arrosage du méristème des plantules.

	Nombre de Feuilles	Hauteur des Feuilles en millimètres	Poids du Bouquet Foliaire en grammes	Diamètre de la Racine en millimètres	Poids de la Racine en grammes	Matière sèche dans la Racine % Frais	Sucres totaux solubles dans la Racine % Frais
Lot I. Témoin.							
après 70 jours	17	297	—	15.5	—	15.14	9.4
91 jours	22	430	113,6	28.6	33.8	15.91	10.7
108 jours	30	457	198	46.7	63	17.72	10.7
132 jours	42	500	352	61	116	—	—
154 jours	52	480	420	67.4	156	—	—
176 jours	61	473	471	70.3	251	19.69	14
Lot II. Glomérules lavés et début de germination.							
après 70 jours	16	318	—	13.1	—	13.03	7.5
91 jours	21	437	140.5	29.7	26.3	14.95	9.8
108 jours	32	494	262.9	52.2	86.1	17.41	11.5
132 jours	44	540	503	71.7	191	—	—
154 jours	53	527	656	81.1	258	—	—
176 jours	61	500	553	86.5	—	17.85	13.5
Lot III. Glomérules lavés, germés; arrosage du méristème.							
après 70 jours	17	306	—	17.6	—	16.86	8.2
91 jours	22	437	130	31.6	36.2	16.29	9.6
108 jours	31	472	245	49	83.5	21.11	12.4
132 jours	43	514	491	72.9	188	—	—
154 jours	53	512	617	79	289	—	—
176 jours	63	524	620	86.6	358	17.60	13.5
Lot IV. Glomérules lavés, germés et traités par les solutions actives; arrosage du méristème.							
après 70 jours	17	288	—	17	—	14.45	8.4
91 jours	22	466	151.6	31.9	30	15.67	10.8
108 jours	31	497	282.5	48.9	95.5	19.42	12.2
132 jours	44	536	489	70.5	190	—	—
154 jours	53	516	628	81.6	328	—	—
176 jours	62	484	560	93.8	473	17.99	13

La mesure de la hauteur des feuilles formées successivement dans les divers lots montre que les bouquets foliaires marquent l'influence favorable du lavage des glomérules et de leur traitement par les hormones; mais seulement à partir du troisième mois de culture, c'est-à-dire à partir du moment où les betteraves ont 30 feuilles et où se réalise dans le cycle végétatif l'étape que nous avons précédemment désignée sous le nom de *Tubération*.

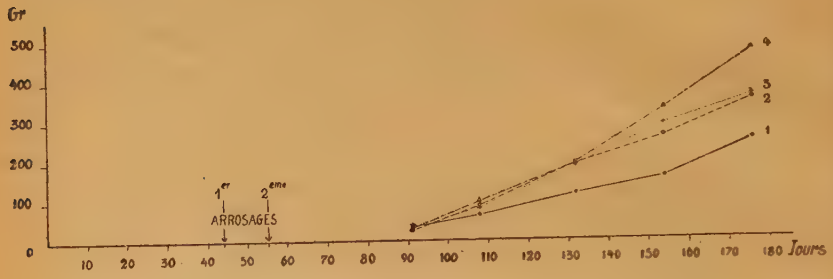


DIAGRAMME II.

Évolution du poids frais de la racine, au cours de la culture en milieu complètement artificiel et constant (éclairage 15.000 Lux).

1. Témoin sec (Lot I). — 2. Témoin imbibé (Lot II). — 3. Glomérules lavés mais non traités; plantules subissant deux arrosages avec solution B (à l'âge de 6 feuilles) (Lot III). — 4. Glomérules lavés, et traités avec solution A; plantules subissant deux arrosages avec solution B (à l'âge de 6 feuilles) (Lot IV).

En ce qui concerne le diamètre et le poids des racines, les betteraves témoins, dont les glomérules ont été semés sans aucun traitement préalable et à l'état sec, ont des tubercules sensiblement moins développés que ceux des autres lots, mais c'est seulement au delà du 110e jour que les plantes traitées révèlent une avance de plus en plus nette.

En observant l'allure des courbes (diagrammes I et II), nous constatons que :

1° le lavage des glomérules, préalable au semis, a une influence nettement favorable sur le développement de la racine, courbe 2;

2° les courbes 2 et 3 se superposent dans tout leur parcours. On peut en inférer que l'arrosage du méristème de la tige a le même résultat que le lavage des glomérules;

3° le trempage des glomérules dans une solution d'hétéro-

auxine, ajouté aux traitements précédent, — lavage et arrosage, — provoque à partir du 140e jour un avantage très notable pour le diamètre et le poids de la racine;

4° la richesse saccharine de la racine n'est pas influencée de manière appréciable par les divers traitements, ce qui confirme nos expériences antérieures.

Enfin, nous ferons remarquer que les conditions de cette expérience, où les 15.000 Lux ont été maintenus sans augmentation d'intensité contrairement aux autres essais dans lesquels les betteraves recevaient 25.000 Lux, à partir du stade de *Tubération*, semblent avoir eu une influence sur le poids des racines. Aux environs de 15.000 Lux, en effet, nous avons constaté que l'influence lumineuse devient facteur limitant.

III.

A. — **CONTROLE SUR TERRE ET A LA LUMIERE DU JOUR DES RESULTATS ACQUIS EN MILIEU CONDITIONNE.**

B. — **EXPERIENCE DE JAVORISATION.**

Cette expérience a été réalisée sur deux champs de superficie restreinte (2.7 et 0.8 ares), aux environs de Tirlemont, non loin du laboratoire de Photosynthèse.

Dans le champ A (15 parcelles de 9 m. × 2 m.), les glomérules ont été semés immédiatement après traitement, alors qu'ils étaient encore humides, tandis que dans le champ B (15 parcelles de 3 m. × 1 m. 60), les glomérules ont subi après lavage, imbibition et trempage dans les solutions expérimentales) 15 jours de dessiccation à l'air libre.

Dans le champ B également, un lot de glomérules, après avoir subi un lavage à eau courante, a été « javorisée » selon la méthode classique mise au point parfaitement par les Écoles russes et tchèques.

Ces deux champs d'essais sont composés de terre à Betteraves de remblai, fumée avant l'hiver (fumier de ferme), le champ A étant, en outre, amélioré d'une couche de 20 cm. de terre de jardin.

Tous deux, très riches en acide phosphorique, ont été engraissés à la fin de l'hiver au moyen de 100 kg. d'azote à l'Ha, sous forme de nitrate d'ammonium et 100 kg. de potasse à l'Ha, sous forme de chlorure de potassium.

Trois répétitions ont été prévues pour chacun des objets; ce qui est évidemment trop peu, mais se justifie par le fait qu'il s'agit d'essais préliminaires.

Les semis ont été exécutés pour le champ A, le 8 avril; pour le champ B, le 21 avril.

La répartition des lots se présente comme suit :

Champ A :

Lot I. Témoin : glomérules secs non traités.

Lot II. Témoin : glomérules lavés à l'eau distillée courante pendant 24 heures, puis conservés en atmosphère humide pendant 60 heures pour obtenir un début de germination.

Lot III. Glomérules lavés selon II, puis imprégnés durant 12 heures au moyen d'une solution composée de : °/oo

Hétéro-auxine	50 mgr.
Adénine	4 mgr.
Aneurine	4 mgr.
Acide nicotinque	4 mgr.

En outre, le méristème du bouquet foliaire de chaque plantule a été imbibé deux fois, à une semaine d'intervalle, au moyen d'un tampon d'ouate imprégné d'une solution à 6 °/oo d'adénine, d'aneurine et d'acide nicotinique; le lendemain, le tampon a été enlevé après rinçage à l'eau. Cette opération a été réalisée au stade de 6-8 feuilles.

Champ B :

Lot VI. Témoin : glomérules secs.

Lot VII. Témoin : glomérules lavés selon II, puis soumis à la température de 2° à 5° durant 15 jours (jarovisation).

Lot VIII. Comme le lot III, mais glomérules séchés durant 15 jours après traitement.

Lot X. Comme le lot II, mais glomérules séchés durant 15 jours après traitement.

Les lots IV, V et IX ont été réservés à des essais avec oxydants sur lesquels nous reviendrons ultérieurement.

Le champ A, semé le 8 avril (semis hâtif), a subi dès le début de juin, alors que le bouquet foliaire présentait 16 à 20 feuilles, une très violente attaque de pucerons qui est allée en s'accentuant jusqu'à dépérissement complet du bouquet foliaire vers le 10 juillet. De plus, les plantes ont présenté des symptômes de jaunisse.

Nous avons pu, à ce moment, maîtriser l'envahissement des insectes par d'abondants lavages à la nicotine et à l'émulsion de poussière de tabac. Peu à peu, un nouveau bouquet foliaire a remplacé le précédent disparu.

Ce nouveau feuillage bien vert, à feuilles non cassantes, mais peu élevées, a végété jusqu'à la fin de la saison en manifestant, toutefois, durant les jours de sécheresse de septembre, une fanaison momentanée.

Le champ B, semé le 21 avril, a été beaucoup moins parasité de pucerons que le premier; son bouquet foliaire n'a pas été renouvelé aussi intégralement, mais il a présenté des manifes-

TABLEAU IV.

Expériences réalisées sur terre normale et à la lumière du jour et essai de Jarovisation.

	Poids par Plante			Sucre % Frais	Rendement à l'Hectare						
					Racine		Feuilles+Collet		Sucre		
	Racine	Feuilles + Collet	Total		Kgr/Ha	± e	Kgr/Ha	± e	Kgr Ha	± e	Augmentation en %
Champ A. — Glomérules.											
I. Témoins semés secs . . .	500	469	969	15.27	40416	1943	37896	1263	6176	515	—
II. Lavés.	608	548	1156	15.27	45139	955	40674	2053	6892	187	11.6
III. Lavés comme II, début de germination, traités avec hormones: plantules imprégnes d'hormones	620	538	1158	15.02	47202	1421	40872	1579	7094	278	14.5
Champ B. — Glomérules.											
VI. Témoins semés secs . . .	489	673	1162	14.2	38958	2156	53645	3938	5225	259	—
VII. Lavés puis jarovisés . . .	608	732	1340	14.63	44531	726	54687	4146	6516	112	24.7
VIII. Lavés, début de germination, puis séchés (15 jours) .	546	647	1193	14.63	41753	1900	49478	4163	6098	205	16.7
X. Témoins lavés avec début de germination, puis séchés (15 jours)	531	693	1224	14.33	41770	1410	54513	1383	5981	162	14.4

tations de jaunisse très accentuées. Les mesures de poids des racines et les analyses de sucre ont été faites, selon les méthodes traditionnelles par M. Simon, ingénieur à l'Institut belge pour l'Amélioration de la Betterave, auquel nous adressons nos plus vifs remerciements.

La récolte des deux champs a été faite le 9 octobre. Les résultats obtenus figurent au tableau IV.

On peut en tirer les conclusions suivantes :

1° Le lavage des glomérules à l'eau distillée augmente le rendement en sucre à l'Ha de 11.6 à 14.4 %;

2° Le lavage suivi d'un traitement aux hormones de croissance, hétéro-auxine, adénine, aneurine, acide nicotinique augmente le rendement de 14.5 à 16.7 %. La part qui revient à l'action des hormones dans ces traitements ne serait que de 2 à 3 %;

3° Le lavage suivi de javorisation améliore le rendement à l'Ha de 24,7 %; la javorisation seule interviendrait pour 10 %;

4° Le séchage des glomérules après les divers traitements n'a pas une influence très défavorable puisqu'elle ne diminue que de 2 % les avantages acquis lorqu'ils sont semés humides. Il résulte donc de nos diverses expériences que les glomérules lavés, réveillés par un début de germination et traités avec les solutions et les concentrations utilisées, produisent des betteraves qui présentent une amélioration du rendement en sucre à l'Ha de 10 à 20 %.

RESUME ET CONCLUSIONS.

Nous avons entrepris une étude de l'action de l'hétéro-auxine, de l'aneurine, de l'adénine, de l'acide nicotinique, de l'acide naphtylacétique et du mélange de ces diverses substances sur la Betterave sucrière. Nous avons administré ces substances en concentrations variées et par différents moyens : arrosage des feuilles et des racines, trempage des glomérules avant la germination ou après le déclanchement de celle-ci, arrosage précis des méristèmes de tiges.

En ce qui concerne les essais de trempage des glomérules dans les solutions expérimentales, une attention particulière a été donnée à la préparation du matériel : d'abord, à la question de savoir s'il vaut mieux ou non réveiller les embryons avant de les traiter et s'ils supportent la dessiccation après le traitement, afin de permettre un semis ultérieur; ensuite, s'il se con-

firme qu'un lavage des glomérules élimine des substances freinantes entravant normalement la germination.

Nos expériences ont été faites parallèllement dans des champs d'essais (essais préliminaires avec surface restreinte) et dans le milieu artificiel conditionné maintenu constant (aquiculture, éclairage 15.000 et 25.000 lux) que nous avons mis au point précédemment et qui permet le déroulement du cycle végétatif de la Betterave sucrière depuis le semis jusqu'à la montée en graine, dans des conditions intéressantes, fixées, standardisées.

Nous avons tenu, enfin, à réaliser un essai de javorisation des glomérules en relation avec le lavage de ceux-ci au moment de la germination.

Voici nos conclusions :

1. L'arrosage des racines et des feuilles par les solutions expérimentales en plein champ ne donne pas de résultats.

2. Le traitement du méristème terminal est sans effet sur le développement du bouquet foliaire ou de la racine.

3. Le lavage des glomérules dans l'eau distillée courante a un effet favorable sur le développement ultérieur. En plein champ, nous avons constaté une amélioration de 10 % environ du rendement en sucre à l'Ha. Deux de nos expériences se confirment à cet égard.

Cette amélioration est due au développement plus considérable acquis par la racine.

4. L'imprégnation des glomérules, préalablement lavés et réveillés par imbibition, au moyen d'une solution d'hétéroauxine 50 mgr. $^{0}/_{00}$, d'adénine 4 à 8 mgr. $^{0}/_{00}$, d'aneurine 4 à 8 mgr. $^{0}/_{00}$ et d'acide nicotinique 4 à 8 mgr. $^{0}/_{00}$, favorise le développement de la racine. Nos diverses expériences sont toutes positives à ce sujet.

La dernière expérience, réalisée sur champ d'essais, conclut à une augmentation de 10 à 15 % du rendement en sucre à l'Ha.

5. Le lavage des glomérules suivi de javorisation améliore le rendement en sucre de 24.7 %.

6. Au cours de ces diverses expériences, nous n'avons pas observé de montées en graines. Pourtant dans la dernière série (lot VII) les graines ayant été javorisées, on aurait pu s'attendre à une sexualisation précoce des betteraves.

Nous émettons l'hypothèse que le lavage des glomérules a pu enlever non seulement les substances freinantes qui inhibent

La technique que nous préconisons comprend deux parties distinctes :

1° L'obtention de plantules au stade cotylédonaire (2);

2° Le développement des plantules sur solution nutritive.

Les glomérules sont tamisés et ensuite triés à la main. Nous ne retenons que les exemplaires en tous points comparables.

La désinfection est obtenue par barbotage dans une solution d'eau de Javel 2,5 %. Les glomérules sont ensuite soigneusement rincés dans de l'eau stérile.

Nous avons expérimenté différents substrats pour effectuer les germinations :

Germination sur papier filtre humide ou sur ouate, en boîte de Pétri;

Germination sur étamine;

Germination sur sable.

La germination en boîte de Pétri permet l'observation facile des premiers stades du développement, mais les plantules sont dans des conditions de vie anormales, soit entièrement éclairées, soit entièrement à l'obscurité. Par ailleurs les plantules développées sur ouate s'enlèvent difficilement. La germination sur étamine tendue au-dessus de pots contenant la solution nutritive n'a pas été satisfaisante : les plantules qui sortent du glomérule ne sont pas exactement dans le même plan et de ce fait pénètrent difficilement à travers les mailles.

La technique sur sable est à notre avis la meilleure.

Avant son emploi, le sable est lavé aux acides, rincé de nombreuses fois et stérilisé à la chaleur. Les terrines sont en terre poreuse d'un volume d'un litre environ. Les glomérules désinfectés, au nombre d'une centaine par terrine, sont recouverts par une couche de deux centimètres de sable légèrement tassé. Le sable est maintenu humide par addition de solution nutritive diluée (1/10). La teneur en eau du milieu doit se maintenir aux environs de 25 %.

Des essais de germination ont été effectués aux températures suivantes : 22°, 15°, 12°, 10°. La durée de germination varie dans le même ordre de 4 à 12 jours, mais le pourcentage de germination est pratiquement le même. Nous adoptons la température de 12°. C'est, en effet, à 12° que nous obtenons les plantules les plus robustes et morphologiquement les mieux constituées. Nous maintenons constante cette température (3).

A cette période de leur vie les jeunes betteraves ne possèdent pas encore de radicelles, mais simplement une racine principale. Cette disposition facilite grandement le repiquage sur les bacs contenant la solution nutritive.

On dégage les plantules par un léger courant d'eau afin de les déterrer sans les blesser. Un sérieux et nouveau triage s'impose cette fois sur les plantules (les variations individuelles étant déjà considérables) si l'on veut travailler avec un matériel aussi homogène que possible.

Les bacs sont en tôle paraffinée intérieurement. Les bacs en tôle galvanisée même paraffinée sont à rejeter, car la toxicité du zinc s'est affirmée manifestement lors de nos premiers essais.

Le couvercle qui recouvre les bacs, destiné à recevoir les plantules au moment du repiquage, doit posséder plusieurs qualités : il doit être opaque, afin d'empêcher la lumière de pénétrer jusqu'aux racines. En second lieu, il doit être plastique afin de permettre le très rapide élargissement de la racine tubérisée sans occasionner de blessure; en dernier lieu, il ne peut être nocif pour les plantes.

Nous avons mis au point le système suivant : une étamine enduite d'un mélange de cérésine (40 %), vaseline blanche (40 %) et de noir animal (20 %) est tendue sur un encadrement en bois paraffiné. On ajoute un cristal de thymol au mélange pour prévenir les infections. Quand la plantule est plus forte on remplace l'étamine par une planche percée de trous de diamètre convenable.

Dans le but de choisir parmi les nombreuses solutions nutritives celle qui convient le mieux pour la betterave, nous avons fait des essais comparatifs avec les solutions suivantes :

Zinzadze modifiée par Decoux et Roland (2).
Hoagland PN (4).
Hoagland TC (4).

La solution de Zinzadze présente un abondant précipité de $Ca\,SO_4$. Elle doit être employée dans des vases à fond conique afin de faciliter le brassage et ne peut donc pas convenir pour la culture en bacs de grandes dimensions. La solution Hoagland PN s'est affirmée meilleure que la solution TC. Mais cette solution est trop acide pour la betterave (P_h 5,5). Nous avons obvié à cet inconvénient en remplaçant le KH_2PO_4 par du K_2HPO_4. Par le même fait nous améliorons le rapport K/Ca.

Voici la composition de la solution d'Hoagland PN modifiée par nous :

	Gr. par litre
K_2HPO_4	0,174
KNO_3	0,505
$CaNO_3 . 4 H_2O$	1,180
$MgSO_4 . 7 H_2O$	0,493
H_3BO_3	0,00286
$MnCl_2 . 4 H_2O$	0,00181
$ZnSO_4 . 7 H_2O$	0,00022
$CuSO_4 . 5 H_2O$	0,00008
Sel de fer	0,005

Les solutions nutritives sont continuellement aérées. L'air sous pression est fourni par une pompe branchée sur la distribution d'eau. Avant son arrivée dans les bacs, il est désinfecté par passage successif dans des flacons laveurs : le premier flacon renferme une solution de $KMnO_4$, le second de l'H_2SO_4 conc., le troisième de l'eau distillée, le quatrième, de sûreté, reste vide.

L'aération uniforme est obtenue par des rampes en verre percées de trous cappillaires. Il est essentiel de réaliser convenablement celle-ci si l'on veut obtenir de bons résultats.

Cette technique, employée depuis 1939, nous a donné entière satisfaction. Nous nous sommes toujours arrêté dans nos expériences au stade de la tubérisation (3). Pour obtenir des betteraves adultes, il est peut-être nécessaire de faire à la composition de la solution des modifications quantitatives.

Ce travail a été réalisé, en 1939, dans les laboratoires de physiologie de l'Institut botanique de l'Université de Liége, sous la direction du Prof[r] Bouillenne, grâce à un subside de la Raffinerie Tirlemontoise et de l'Institut belge pour l'Amélioration de la Betterave. Nous tenons à exprimer toute notre reconnaissance à ces deux organismes. Nos remerciements vont également à MM. les D[rs] de Roubaix et Lazar, qui nous ont grandement aidé au cours de ce travail.

AUTEURS CITES.

1. Willam, A., *Sucrerie belge*, n° 23, 1[er] août 1939.
2. G. Roland et L. Decoux, *Publications de l'Institut belge pour l'Amélioration de la Betterave*, n° 2, mars-avril, 1937.
3. R. Bouillenne, P. C. Kronacher et J. de Roubaix, *Publications de l'Institut belge pour l'Amélioration de la Betterave*, n° 3, mai-juin, 1940.
4. D. R. Hoakland et T. C. Broyer, *Plant Phys.*, II, n° 3, 1936.

M. HAYEZ, Imprimeur de l'Académie royale de Belgique, rue de Louvain, 112, Bruxelles.
N° Réf. 2019 (Domicile légal : rue de la Chancellerie, 4)

Extrait du *Bulletin de la Société royale des Sciences de Liège.*
Séance du 18 mars 1943. — N° 3.

Action de l'hétéroauxine appliquée aux grains de *Zea Maïs*, sur le rendement en épis,

par Marie BOUILLENNE-WALRAND (*).

Depuis la mise en évidence et l'isolement par l'École d'Utrecht des premières phytohormones (les auxines), suivies de près par la découverte de l'hétéroauxine ou acide β-indol-acétique (1, 2, 3), des centaines de travaux ont paru concernant l'action des auxines, de l'hétéroauxine et des substances dites de croissance (Growth Substances), qui présentent une action physiologique similaire à celle des véritables hormones, mais agissent à des concentrations plus élevées.

Ainsi que l'a déjà fait remarquer R. Bouillenne (4), il faut distinguer très nettement, dans l'activité des auxines et substances de croissance, deux catégories d'actions bien distinctes :

A. Une action physiologique vraie due à des concentrations très faibles et normales dans les tissus végétaux. Cette action hormonale est celle de facteurs d'élongation cellulaire mesurable par divers tests (Avena test, Pea test de Went, etc.). Cette concentration est variable selon les tissus envisagés : dans les parties aériennes en voie de croissance, elle varie de 10^{-6} à 10^{-7} mol.; dans les racines, l'auxine existe régulièrement (Van Overbeek, 5) et, ainsi que l'ont montré diverses études récentes, la concentration active est beaucoup plus faible (10^{-9} à 10^{-11} mol.).

Geiger Huber et Burlet (6) ont montré que dans des solutions contenant plus de 10^{-7} mol. de facteurs de croissance, les racines sont arrêtées dans leur développement.

Hans Burström (7) a trouvé qu'une concentration de 10^{-11} mol. retarde encore l'élongation des racines de Froment et provoque un épaississement des racines par extension radiale des cellules.

Duhamet (8) donne comme concentration accélératrice de la croissance radiculaire des teneurs variant de $10^{-7,5}$ à 10^{-15} mol. d'hétéroauxine.

(*) Présenté par Raymond Bouillenne.

Cette sensibilité particulière des racines à l'hormone d'élongation a pu pendant un certain temps faire croire que l'auxine (le terme auxine englobe les deux corps isolés jusqu'à présent, auxine *a*, auxine *b*) n'était pas l'hormone d'élongation cellulaire des racines, mais qu'au contraire, elle inhibait sa croissance. En réalité, les doses qui, dans les tiges, agissent comme facteurs d'élongation sont inhibitrices pour les cellules des racines; mais à dilution plus considérable, elles agissent comme hormones d'élongation.

Cependant, en ce qui concerne la croissance des racines, la découverte de l'action considérable de la vitamine B_1 et de l'acide nicotinique a permis à certains auteurs de dire que les véritables hormones de croissance des racines sont la vitamine B_1 et l'acide nicotinique (Bonner, 9; Robbins, 10; White, 11). D'autre part, on sait que, sur la plante, les pointes radiculaires synthétisent elles-mêmes l'auxine (Van Overbeek et Bonner, 12; Van Raalte, 13). On sait aussi que dans les cultures *in vitro*, les racines synthétisent elles-mêmes les acides aminés en présence de sucre et de nitrates, d'acide nicotinique et de vitamine B_1. On peut donc admettre que, *in vitro*, elles sont capables également de synthétiser l'auxine nécessaire à leur allongement.

Il en est de même pour l'inhibition des bourgeons par les auxines. Thimann (14) a émis l'hypothèse que, comme pour les racines, la croissance est inhibée par de fortes et stimulée par de faibles concentrations d'auxine.

Skoog, en 1939 (15), a montré, par culture de bourgeons excisés de *Pisum*, que des concentrations supérieures à 0,1 mgr./litre d'hétéroauxine inhibent la croissance de ceux-ci.

Il est acquis, en tous cas, que les bourgeons à l'état latent ne contiennent pas d'auxine libre, mais que celle-ci apparaît dès que ceux-ci se développent (Thimann et Skoog, 16; Ferman, 17; Van Overbeek, 18).

De même, une toute récente étude (P. Deuse) [1] trouve de l'auxine dans les bourgeons latéraux en voie de développement chez le Chou de Bruxelles.

Il ne semble pas douteux que, pour les bourgeons latéraux comme pour le bourgeon principal, les auxines jouent le rôle

---

[1] P. DEUSE, *Contribution à l'étude de la tubérisation*; dissertation présentée à l'Université de Liége (en voie de publication).

d'hormone de croissance; mais, comme l'a fait remarquer R. Bouillenne (4), l'auxine agit comme facteur d'élongation sur des cellules ayant quitté la phase méristématique, tandis que l'action inhibitrice s'adresse à des tissus à caractère embryonnaire. Cet auteur considère que l'une des actions secondaires des auxines serait, à certaines doses, d'empêcher les cellules de quitter l'état embryonnaire et, partant, de favoriser leur multiplication.

B. Nous en arrivons ainsi au second mode d'action des auxines et des substances de croissance : action physiologique secondaire, que l'on pourrait appeler pharmacodynamique, obtenue par des concentrations plus élevées que celles qui provoquent l'allongement. Aux endroits où l'auxine ou autres substances de croissance se trouvent appliquées en concentrations anormales, il se produit une accumulation de matières de réserve et de micro-aliments qui provoquent des mitoses considérables dans des tissus méristématiques et des dédifférenciations (Moureau, 19; Buvat, 20) suivies de multiplications dans les tissus déjà organisés, avec apparition subséquente de cals, tumeurs, racines, bourgeons, fruits (sur ovaires stériles).

Cette action particulière des substances de croissance sur la multiplication cellulaire et l'apparition de nouveaux organes a suscité de nombreux travaux dans les laboratoires de botanique et d'agriculture; de nombreuses applications pratiques ont été faites sur une grande échelle et notamment aux États-Unis, pour le bouturage des arbres fruitiers, des plantes d'ornement, etc.

Le traitement des graines par l'hétéroauxine a également été essayé par de nombreux auteurs et avec des résultats assez divergents (Shibuya, 21; Lela Barton, 22; Youden, 23; Tang Pei Lung, 24; Tovartnetskiy et Rivkind, 25; Cholodny, 26; Sher et Du Buy, 27; R. Bouillenne, J. de Roubaix et O. Lazar, 28).

Tang Pei Lung (24), par exemple, a constaté que des graines de Moutarde, Riz, Tomate traitées 24 heures par des solutions d'hétéroauxine de 1 à 100 mgr. par litre donnent des plantes fleurissant plus tôt que les témoins et ayant moins de feuilles à maturité.

De même Sher et Du Buy (27) obtiennent la précocité de l'anthèse et un plus grand rendement de fruits de Tomate en combinant un traitement des graines par de la poudre de talc hétéroauxinée et un traitement des plantes avec des solutions

d'acide indol-butyrique ou naphtyl-acétique, au moment du repiquage.

Shibuya (21) trouve que des graines d'Arachide et de Coton traitées par l'acide β-indol-acétique à 20 mgr. $^{0}/_{00}$ donnent des plantes qui portent plus de fleurs, et dans le cas du Coton, qui fleurissent plus tôt que les témoins.

Par contre, Barton Lela (22) trouve que le traitement des graines de Tomate et de Froment, etc. par diverses concentrations (1-2 mgr. à 320 mgr. $^{0}/_{00}$) du sel potassique de l'acide β-indol-acétique ou de l'acide α-naphtalène acétique est sans effet et plutôt nocif sur la germination et qu'il n'y a aucun bénéfice à ce traitement. En général, cependant, les auteurs rapportent une accélération de la croissance et une fructification précoce et meilleure des plantes venant de graines traitées aux substances de croissance.

Sur ce dernier sujet, Thimann et Lane (29) ont publié une belle série d'expériences montrant que :

1. Des grains d'*Avena* et de *Triticum* décortiqués et mis 48 heures sur papier-filtre mouillé, puis mis sur papier-filtre contenant des solutions d'hétéroauxine de 10^{-2} à 10^{-6} mgr./litre (5×10^{-8} à 5×10^{-12} mol.) à une température de 24° C. pendant 5 jours, donnent au huitième jour et pour les solutions à 10^{-3} et 10^{-4} mgr./litre des racines principales 24 à 33 % plus longues que les témoins.

L'action de l'hétéroauxine à faible concentration est donc très nettement activante de la croissance des racines.

2. Des grains d'*Avena* immergés pendant 24 à 48 heures dans des solutions d'hétéroauxine à 200 mgr./litre, puis mis à germer sur eau montrent d'abord une forte inhibition de la croissance des racines pendant environ 48 heures (1 mm. de long. contre 16 mm. chez les témoins), mais ensuite la croissance des racines est considérablement accélérée et après 192 heures les racines des lots traités sont 55 % plus longues que celles des témoins.

Si l'on met d'abord les grains pendant 48 heures dans de l'eau pure, puis qu'on traite les plantules pendant 24 heures par une solution d'hétéroauxine à 100 gr./litre, il y a peu de retard dans la croissance, mais au point de contact avec le liquide il y a formation de nombreuses racines.

3. Des grains d'*Avena* mis à gonfler dans une solution d'héréroauxine à 100 mgr./litre pendant 48 heures, puis mis à germer sur sable donnent après 2 semaines des plantes beau-

coup plus grandes, à feuilles plus larges; les nouvelles feuilles apparaissent rapidement après 6 semaines; la sixième feuille est apparue et développée, alors que sur les témoins elle est encore inexistante.

A maturité, les plantes ont une feuille de plus que les témoins, fleurissent quelques jours plus tôt et donnent des épis plus grands (25 épillets au lieu de 17-18 dans les témoins).

Ce travail de Thimann et Lane résume fort bien l'état de nos connaissances actuelles sur l'action de l'hétéroauxine comme facteur de croissance des racines et des plantes en général.

Aux faibles concentrations l'hétéroauxine accélère la croissance des racines; aux fortes concentrations (100 mgr./litre) elle l'inhibe.

Mais cette inhibition est momentanée ou réversible (comme pour les bourgeons); dès qu'on enlève l'hétéroauxine, la croissance reprend et est accélérée considérablement. Cette accélération peut être due à deux actions :

1. Sur les racines, qui s'allongent plus rapidement lorsque la concentration de l'hétéroauxine y devient optimum;

2. Sur les tiges où la concentration optimum de croissance est beaucoup plus élevée que pour les racines; de plus, les pousses feuillées se développant plus rapidement influencent à leur tour l'allongement des racines.

*
* *

Au cours de l'année 1941, nous avons effectué des essais d'hormonisation des grains de *Zea Maïs* provenant d'une culture des environs de Maestricht.

Nous devons à la complaisance de M. Lathouwers, professeur à l'Institut Agronomique de l'État à Gembloux, la détermination de ces grains :

Variété I : *Zea Maïs*, hybride entre *indentata* et *indurata* à grains jaunes et brun foncé.

Variété II : *Zea Maïs indentata* « Dent corn ».

Variété III : *Zea Maïs* hybride entre *indentata* et *indurata* à grains blancs et brun violacé.

Variété IV : *Zea Maïs indurata macrosperma* « Flint corn ».

Dans cette première série de recherches (1941) nous avons utilisé les 4 variétés fournies. Nous avons suivi la végétation des grains de Maïs traités aux substances de croissance comparativement aux témoins et évalué la valeur moyenne de la récolte.

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX.

L'expérience commence le 29 avril 1941. Deux lots de grains des variétés I, II, III, IV sont mis à tremper pendant 48 h., à la température de 25°, formant 4 séries d'essais dans chaque lot.

Premier lot : eau;

Deuxième lot : hétéroauxine à 100 mgr./litre.

Le 1er mai, les grains sont sortis des liquides et mis à germer dans des caisses dans une serre de physiologie à la température moyenne de 15°; 5 jours plus tard les grains sortent uniformément de terre; 9 jours plus tard les deux premières feuilles s'étalent, les plantules ont uniformément 5-6 cm. de hauteur; il n'y a guère de différence sinon que les plantules de grains traités à l'hétéroauxine sont plus trapues, à feuilles plus larges.

Le 12 mai, les plantes sont photographiées (voir photos 1, 2, 3 4); les lots traités et témoins sont très comparables, bien que, d'une manière générale, les feuilles des plantes venues de grains traités à l'hétéroauxine soient plus larges.

Le 16 mai, les lots sont repiqués en pleine terre, les 3 premières séries dans une terre légère, bien fumée, la dernière série IV dans une terre lourde, en sous bois récemment défriché, dans le Jardin Botanique de Liége. (Nous mettrons à part les résultats obtenus dans cette terre.)

L'expérience a été compromise par les gelées tardives des 17-18 mai, les deux premières feuilles ont souffert, jaunissent. En général cependant toutes les plantes résistent et de nouvelles feuilles se forment.

Les plantes se développent normalement. Les épis se forment, la floraison et la fructification se déroulent.

En général, un épi par plante est normal, les autres ne sont pas fécondés et avortent.

Seule la variété III donne des tiges multiples dont chacune porte en moyenne un épi fécondé.

La récolte a lieu entre le 3 et le 17 octobre, au fur et à mesure que les épis sont mûrs sur des plantes en voie de dessiccation. Au moment de la récolte, la plupart des feuilles sont jaunies, rares sont celles qui sont encore en partie vertes. Les plantes sont coupées au ras du sol. Le foin est pesé. Les épis sont pesés frais munis de leurs bractées, mis à sécher pendant trois ou quatre semaines. Ils sont ensuite dépouillés des bractées et pesés à nouveau. Cela constitue le poids sec.

Le tableau I donne le résumé des opérations de mesures effectuées au moment de la récolte.

Comme nous l'avons dit ci-dessus, la série IV doit être mise à part à cause des mauvaises conditions du sol où elle a été placée.

Photo R. Sauveur.

HOTO 1. — Variété « *indentata* » + « *indurata* ». (Série I.)

Photo R. Sauveur.

PHOTO 2. — Variété « *indentata* ». (Série II.)

Photo R. Sauveur.

HOTO 3. — Variété « *indentata* » + « *indurata* ». (Série III.)

Photo R. Sauveur.

PHOTO 4. — Variété « *indurata macrosperma* ». (Série IV.)

Photographies des plantules de *Zea Maïs* le 12e jour de germination.
Chaque figure correspond à une variété.
T = plantes témoins; H = grains traités.

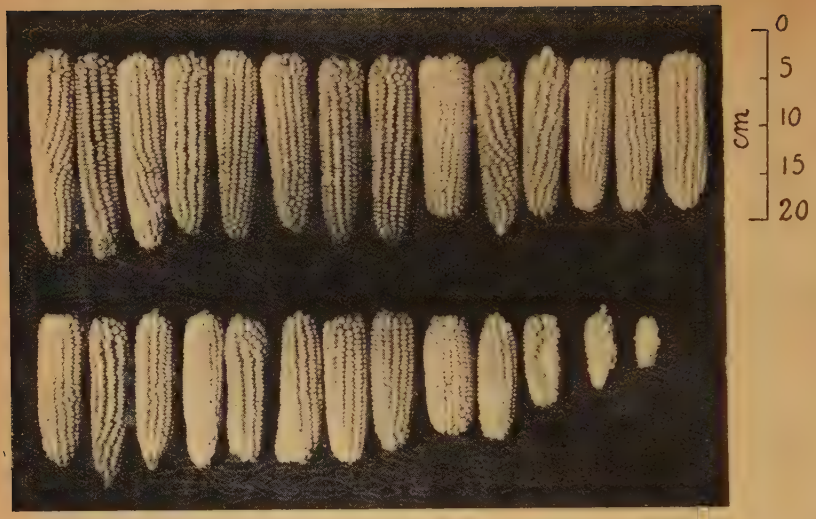


Photo R. Sauveur.

PHOTO 5. – Témoins. Grains trempés simplement dans de l'eau.
(26 plantes ont donné 27 épis.)

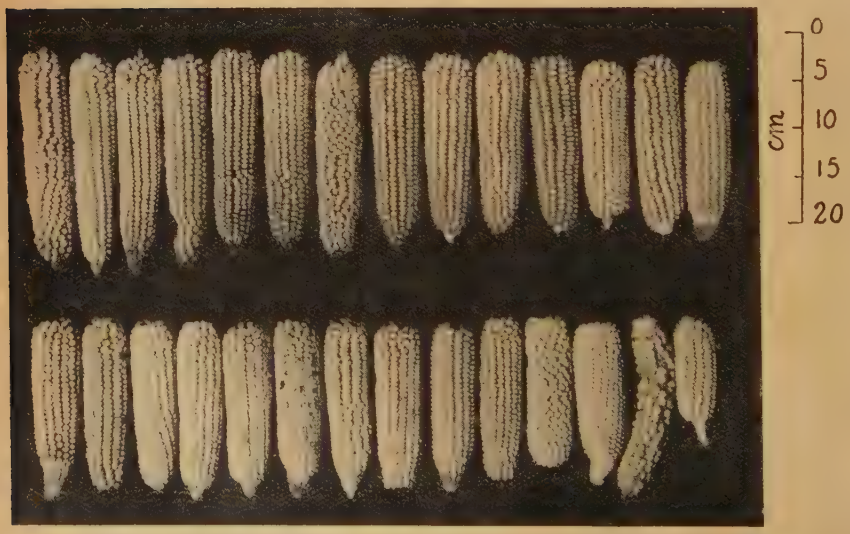


Photo R. Sauveur.

PHOTO 6. – Grains traités avant le semis par 100 mgr. $^{0}/_{00}$ d'hétéroauxine.
(27 plantes ont donné 28 épis.)

Photographies de la récolte de la série II.

TABLEAU I.

Résultats au moment de la récolte, des pesées de *Zea Maïs*.

Témoins (lot I) et traitées (lot II) par l'hétéroauxine à la concentration de 100 mgr. par litre; dans les quatre variétés expérimentées (séries I, II, III, IV).

	Séries	Nombre de plantes	Nombre de tiges	Poids du foin en gr.	Nombre d'épis	Poids frais des épis en gr.	Poids épi par plante en gr.
	I						
lot I	témoins	24	24	1850	25	5000	208
lot II	traités	32	33	3075	37	9000	281
	II.						
lot I	témoins	26	26	4940	27	7000	269
lot II	traités	27	27	6750	28	8700	322
	III.						
lot I	témoins	30	42	5500	42	8850	295
lot II	traités	29	45	5800	47	10100	350
	IV (*).						
lot I	témoins	20	20	750	20 dont 4 avortés complètement	1350	67
lot II	traités	20	20	500	21	1750	87

Le tableau II donne le détail des poids secs d'épis débarrassés de leurs bractées.

Enfin, la figure 1 schématise le poids sec par plante, d'épis obtenus dans les divers lots.

Les photos 5 et 6 montrent la récolte de la série II; photo 5, plantes témoin; photo 6, plantes de graines traitées.

(*) La série IV a subi une croissance défectueuse par suite des mauvaises conditions du sol où fut pratiquée la culture.

TABLEAU II.

Poids sec en grammes des épis par plante, des quatre variétés de *Zea Maïs* traitées à l'hétéroauxine à 100 mgr./litre.

(Chaque ligne de chiffres correspond au poids du ou des épis par plante; le poids de l'épi le plus lourd est souligné dans chaque colonne.)

I		II		III		IV	
Témoins	Traitées	Témoins	Traitées	Témoins	Traitées	Témoins	Traitées
157	245	225	280	258	197	**75**	**94**
156	190	228	242	202	225	42	90
145	175	222	225	200	207	38	88
140	164	207	227+103	188	173	33	75
123	152	180	222	200	173	28	67
114	140	172	222	178	177	27	55
110	138	170	205	170	193	25	55
106	138	165	200	152	167	23	58
105	123	163	188	147	167	22	45
88+52	113	160	160	140	154	18	40
88	110	135	195	147	153	15	45
80	116	65 ½ avorté	**338**	139	151+135	15	43
73	100	307	305	90	142	15	37
227	301	**320**	300	70	150+118	13	33
195	260	280	327	40+22	93+77+68+72+48+31	12	35
						10	33
		257	273	298	235		

307	252	269	295	220	**300**+137		42
222	235	265	282	208+202	277+115	entièrement avortés et non pesés	25
182	205+57	218	275	190+60	260+103		25+18
280	188	210	273	183+182+49	208+105		21+18
237	177	208	265		194+119		
175	173+148	210	255	170+15	193+120		
155+75	141	183	232	135+37	192		
	137	175	253	127+32	180+163		
	130	48 4 (à demi avortés *)	342	107+40+25	174+162		
	333	135	240	**323**	150+150		
	327		122	280	292		
	273+55			277	287		
	273			235+60	238+213		
	258			213+155	190+55		
	248+80			173			
	229						
	150						
Poids total des épis en gr. 3682	6801	5193	6871	6274	7648	411	1042
Nombre de plantes 24	32	26	27	30	29	16	20
Poids épi par plante, moyenne 153	212	199	254	209	263	25,6	50,2

La moyenne est établie sur les 16 plantes portant des épis fertiles

(*) Poids de deux épis.

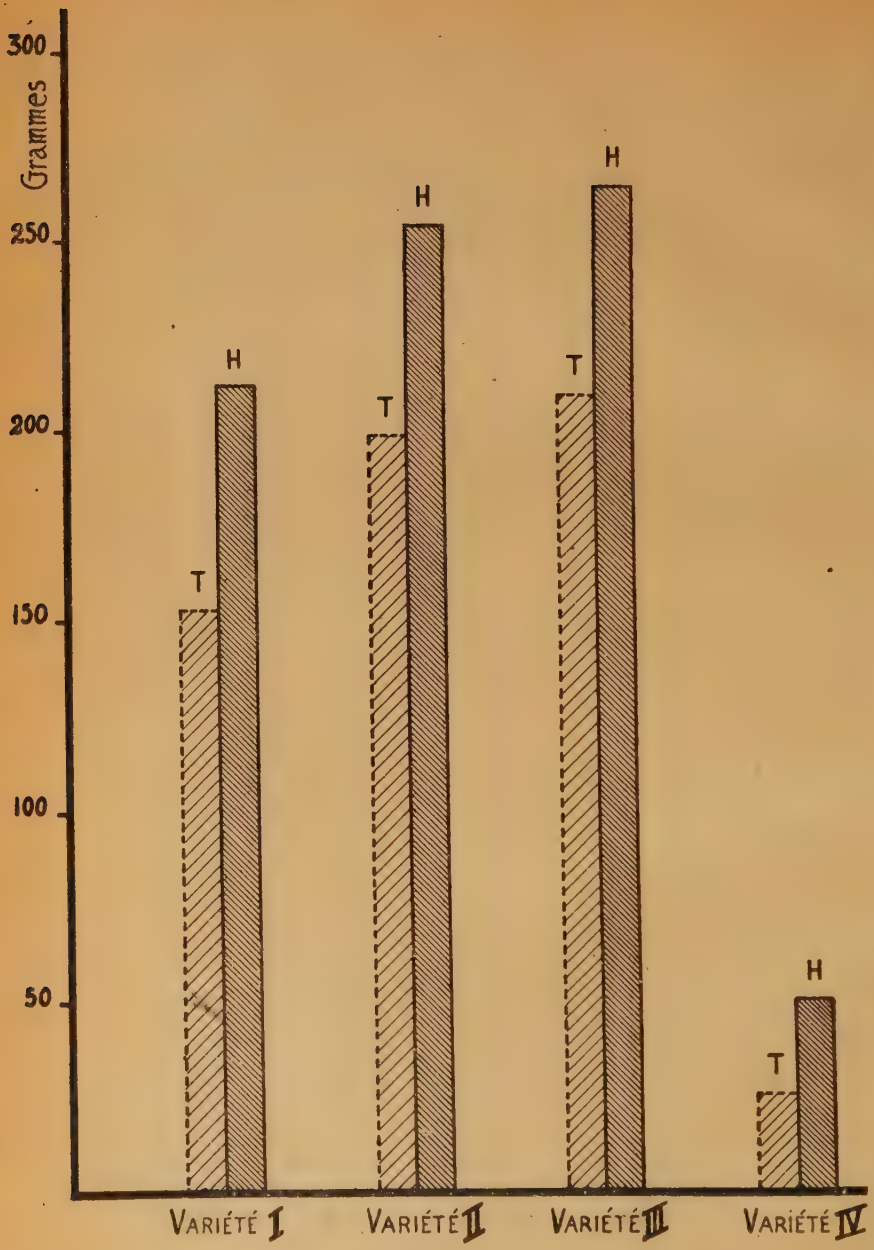


Fig. 1.

Schéma indiquant le poids moyen (en gr.) d'épi obtenu par plante, dans les quatre variétés de *Zea Maïs* traitées à l'hétéroauxine à 100 mgr./litre, comparativement aux témoins.
T = témoins; H = plantes traitées.

Le premier résultat qui apparaît clairement de l'examen de ces divers documents est que le rendement a été amélioré par le traitement des grains à l'hétéroauxine, non pas d'une façon extraordinaire mais de manière constante pour les 4 variétés, quelles qu'aient été les conditions de culture.

Comment ce résultat est-il obtenu ? L'hétéroauxine fait-elle apparaître des épis considérablement plus gros sur les plantes traitées ou bien augmente-t-elle le nombre des épis de poids moyen ?

Les chiffres repris du tableau II montrent que si le poids du plus gros épi est en général plus élevé sur les Maïs traités, il n'est pas du type des monstruosités expérimentales (voir tableau III).

TABLEAU III.

	Épis le plus gros dans chaque série Traitée	Épis le plus gros dans chaque série Témoins
Série I.	333 gr.	280 gr.
Série II.	342 gr.	320 gr.
Série III.	300 gr.	323 gr.
Série IV.	94 gr.	75 gr.

En ce qui concerne la variété III, les chiffres plus bas chez les plantes traitées s'expliquent par la multiplication des tiges et des épis arrivés à maturité; en effet, dans ce dernier cas, 29 plantes ont donné 47 épis chez les plantes traitées; 30 plantes ont donné 42 épis chez les plantes témoins.

Cette multiplication du nombre d'épis par plante a évidemment entraîné une diminution du poids par épi.

Si nous examinons les résultats obtenus dans la variété II où les plantes n'ont pas manifesté de tendance à la multiplication des tiges et des épis et où plantes témoins et plantes traitées ont donné les résultats les plus homogènes, nous voyons que

26 plantes ont donné 27 épis chez les plantes témoins;

27 plantes ont donné 28 épis chez les plantes traitées.

Ces épis se répartissent comme suit (tableau IV) :

TABLEAU IV.

	27 plantes traitées		26 plantes témoins	
	Nombre de plantes	en %	Nombre de plantes	en %
Épis de 300 grammes et plus	5	18,5	2	7,4
Épis de 200 grammes et plus	18	**66,6**	12	**46,1**
Épis de 100 grammes et plus	5	18,5	10	38,4
Épis de moins de 100 gr. . . .	0	0	3	7,4
	28		27	

Le plus grand nombre d'épis chez les plantes traitées se trouve compris entre 200 et 300 gr. (66,6 %), tandis que chez le témoin il se répartit entre 100 et 300 gr. (46,1 % de 200 à 300 et 38,4 % de 100 à 200 gr.).

La variété IV, cultivée en très mauvaise terre, ne sera pas prise en considération bien qu'ici aussi l'hétéroauxine, appliquée aux graines, ait marqué son effet dans la récolte.

Le traitement des grains de Maïs à l'hétéroauxine à 100 mgr. par litre pendant 48 heures a donc eu pour résultat d'augmenter la récolte des épis de Maïs, non pas en faisant apparaître des épis monstrueux, mais en élevant de façon homogène le poids des épis de taille moyenne.

Le rendement plus considérable des plantes traitées peut se traduire soit par un nombre plus considérable de grains par épi, soit par un poids plus considérable de chaque grain.

Nous avons pris quelques épis parmi les plus beaux de la récolte, variété II, traitée et témoin.

Nous avons compté le nombre de rangées verticales d'épillets et le nombre de grains de 4 rangées voisines. En voici les résultats au tableau V :

TABLEAU V.

Numéros des épis et poids en grammes (*)	Nombre de rangées d'épillets		Nombre de grains comptés sur 4 rangées	Moyenne par rangée	
Témoins		Moyenne			
1 320 gr.	14		42-41-39-40	40	
2 307 gr.	10		40-38-38-40	39	
4 280 gr.	12		37-39-43-41	40	
5 265 gr.	12	13,4	33-38-39-36	39	37,5
6 225 gr.	16		36-34-38-35	37	
8 228 gr.	12		33-36-38-39	36	
9 222 gr.	18		34-30-32-32	32	
Traitées		Moyenne			
2 327 gr.	16		41-44-46-42	43	
3 305 gr.	16		41 44-40-40	41	
4 300 gr.	14		34 34-34-33	34	
5 298 gr.	18	15,7	37-38-38-38	38	38
6 295 gr.	16		38-38-38-36	38	
8 280 gr.	14		38-36-38-38	38	
9 275 gr.	16		36-33-36-37	35	

Les épis des plantes traitées comportent plus de rangées verticales d'épillets que ceux des témoins; mais, dans les deux cas, le nombre de grains est, du moins pour les plus beaux épis, sensiblement le même par rangée d'épillets. Thimann avait de même trouvé un plus grand nombre d'épillets (25 contre 17-18) sur des plantes issues de grains d'*Avena* traités à l'hétéroauxine (100 mgr. $^{0}/_{00}$).

En ce qui concerne le poids des grains, on ne peut tirer aucune conclusion. Celui-ci est très variable par épi; les grains sont d'ailleurs très différents les uns des autres : forme, cou-

(*) Les numéros correspondent aux places occupées par les épis sur les photos 5 et 6.

leur, volume, arrangement et espacement varient d'une plante à l'autre (voir photos 5 et 6).

L'amélioration du rendement doit donc être provisoirement attribuée à une augmentation du nombre de grains sur des épis comportant plus de rangées d'épillets.

Quant à l'appareil végétatif, nous n'avons pas étudié particulièrement l'attitude de la plante pendant l'expérience, mais la pesée du foin au moment de la récolte semble indiquer que les grains traités ont donné des plantes généralement plus vigoureuses que les témoins.

Thimann et Lane ont observé sur *Avena* des plantes beaucoup plus grandes, à feuilles plus larges apparaissant plus rapidement (les plantes à maturité ont une feuille de plus que les témoins).

En résumé :

Nos expériences de 1941 montrent que sur *Zea Maïs* le traitement des grains pendant 48 heures par l'hétéroauxine à 100 mgr. par litre a marqué son influence favorable sur la formation des épis floraux et le rendement en épis débarrassés de leurs bractées.

Institut Botanique,
Laboratoire de Physiologie végétale, Université de Liége.

BIBLIOGRAPHIE.

Pour la bibliographie classique du sujet lire :

1. Boysen-Jensen, *Growth Hormons in Plants*, traduit par Avery, G. et Burkholder, P., Mc Graw Hill Cy, New-York, 1936.
2. Went et Thimann, *Phytohormons*, New-York, 1937.
3. Went, *Annual Review of Biochemistry*, **8**, 521-540, 1939.
4. Bouillenne, R., *L'action des phytohormones sur la croissance, la division des cellules et l'organogenèse* (Bull. Soc. roy. Sc. Liége, **11**, 334-344, 1937).
5. Van Overbeek, *Proc. Nat. Acad. Sc.*, **24**, 42, 1938.
6. Geiger Hubert et Burlet, *Jahrb. f. Wissensch. Bot.*, **84**, 231, 1936.
7. Burström, H., *Ann. Agric. Coll. Swed.*, **10**, 209-240, 1942.
8. Duhamet, L., *C. R. S. Ac. Sc.*, **208**, 1838, 1939.
9. Bonner, J., *Plant Physiology*, **13**, 865, 1938.
10. Robbins, et Bartley, *Proc. Nat. Ac. Sc. U. S.*, **23**, 385, 1937.
11. White, P. R., *Plant Physiology*, **12**, 803, 1937.
12. Van Overbeek et Bonner, J., *Proc. Nat. Ac. Sc. U. S.*, **24**, 260, 1938.
13. Van Raalte, *Rec. Trav. Bot. Néerl.*, **34**, 279, 1937.
14. Thimann, K., *Amer. J. Bot.*, **24**, 407, 1937.
15. Skoog, *Amer. J. Bot.*, **26**, 702, 1939.
16. Thimann et Skoog, *Proc. Roy. Soc. London*, Ser. B, **114**, 317-339, 1934.

17. FERMAN, *Rec. Trav. Bot. Néerl.*, **35**, 177, 1938.
18. VAN OVERBEEK, *Bot. Gaz.*, **100**, 133, 1938.
19. MOUREAU, J., *Bull. Soc. roy. Bot. Belg.*, **73**, 144-199, 1940-1941.
20. BUVAT, *C. R. Soc. Biol.*, **135**, 857, 1941.
21. SHIBUYA, T., *J. Soc. Trop. Agr. Taihoku Imp. Univ.*, **10**, 1, 1938.
22. LELA BARTON, *Cont. Boyce Thompson Instit.*, **11** (3), 138-240, 1940.
23. YOUDEN, *ibidem*, **11**, 3, 207-219, 1940.
24. TANG PEI LUNG, *Amer. J. Bot.*, **27** (6), 385-386, 1940.
25. TOVARTNETSKIY et RIVKIND, *C. R. Ac. Sc. U.R.S.S.*, **15**, 363-367, 1937.
26. CHOLODNY, *ibidem*, **3**, 439, 1936.
27. SHER et DU BUY, *Proc. Amer. Soc. Hort. Sc.*, **36**, 723-731, 1938-1939.
28. BOUILLENNE, R , DE ROUBAIX, J. et LAZAR, O., *Bull. Soc. roy. Sc. Liége*, **12**, 656-675, 1942.
29. THIMANN, K. et LANE, *Amer. J. Bot.*, **25**, 535-543, 1938.

M. HAYEZ, Impr. de l'Académie royale, 112, rue de Louvain, Bruxelles
(Domicile légal : rue de la Chancellerie, 4). N° Réf. 2019

Extrait du *Bulletin de la Société royale des Sciences de Liége*
Séance du 18 mars 1943. — N° 3.

Action de l'hétéroauxine sur la respiration des plantules de *Zea Maïs*,

par Marie BOUILLENNE-WALRAND (*).

Parallèlement à nos expériences sur l'action de l'hétéroauxine dans la culture de *Zea Maïs* [M. Bouillenne-Walrand (6)], des mesures de respiration ont été effectuées comparativement à des contrôles, afin de vérifier l'activation du métabolisme due au trempage dans l'hétéroauxine.

Depuis 1937, divers auteurs ont rapporté ce fait que l'hétéroauxine, entre certaines limites de concentration, active momentanément le métabolisme.

Au delà de certaines concentrations, elle agit comme toxique et retarde les respirations.

Les expériences de Robertson Pratt (1) à ce sujet sont démonstratives : des grains de *Triticum* sont trempés pendant 18-19 heures dans des solutions d'hétéroauxine variant de $5{,}7 \times 10^{-8}$ mol. à $1{,}14 \times 10^{-3}$ mol., puis mis à germer en boîtes de Petri à la température de 29° et à l'obscurité. Les respirations sont mesurées de temps à autre par la méthode de Warburg.

Immédiatement après la période d'immersion, aucune différence dans la consommation d'O_2 n'est décelable, mais après 45 heures d'incubation, quand les plantules ont commencé à croître rapidement, les différences sont considérables : les plan-

(*) Présenté par Raymond Bouillenne.

tules de grains trempés dans 50 p.p.m. ($2{,}85 \times 10^{-4}$ mol.) respirent avec une intensité qui est 178 % de celle des témoins.

Les concentrations de 0,01 p.p.m. ($5{,}5 \times 10^{-8}$ mol.) à 100 p.p.m. ($5{,}7 \times 10^{-4}$ mol.) augmentent l'intensité respiratoire.

Les concentrations au-dessus de 100 p.p.m. causent une dépression de l'intensité respiratoire, fait déjà indiqué par d'autres auteurs [Bonner, 1936 (2), Kögl, Haagen Smit et Van Hulsen, 1936 (3)].

De plus, Rob. Pratt montre que l'accélération de la respiration n'est pas due directement à un changement du pH de la solution extérieure ni à un apport de carbone dû à l'hétéroauxine ajoutée.

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX.

Expérience de respiration : 21 au 26 mai.

Trois lots de 12 grains de Maïs, pesant chacun 4 gr. 170, sont placés, l'un dans l'eau, l'autre dans une solution d'hétéroauxine à 100 mgr. $^0/_{00}$ et laissés 48 heures en contact à la température de 20°, et le troisième dans l'étuve à dessiccation pour en obtenir le poids sec qui est de 3 gr. 886.

Le poids des grains imbibés des deux premiers lots devient de 6,050 gr., dans les deux cas.

Il n'y a pas eu de différence dans l'imbibition. A ce moment, les grains ont commencé à germer; la pointe de la racine principale se montre.

Les deux lots sont mis à respirer successivement pendant 42, 21 et 48 heures sur papier-filtre imbibé d'eau, dans une étuve biologique à 24°.

Le 3e jour de germination sur papier-filtre, les grains qui ont été trempés sur hétéroauxine sont en retard : alors que les témoins ont des gemmules de 3-5 cm. de moyenne, celles des plantes traitées sont de 2-4 cm. en moyenne.

Mais après 5 jours de germination, les plantes sur hétéroauxine ont regagné le retard. Voici quelques caractéristiques de ces deux lots (tableau I) : les plantules de grains traités ont regagné le retard dû au contact de l'hétéroauxine et ont même dépassé, en ce qui concerne les longueurs moyennes de la racine principale et de la gemmule, les plantules de grains non traités.

Les analyses des gaz de respiration sont faites par l'appareil Laulanié-Plantefol (4).

TABLEAU I.

Plantules de *Zea Maïs* après 5 jours	Témoins	Traitées
Longueur de la racine principale en cm.	15, 30, 15, 15, 15, 20, 15, 10, 15, 15, 8, 1 pl. non germée. Moyenne : 15.	25, 30, 30, 15, 15, 18, 15, 20, 20, 20, 15, 10, cette dernière plante ne se développe pas. Moyenne : 19.
Ramification des racines principales	Toutes sauf 2.	Toutes sauf 1.
Racines adventives nombre	6, 3, 5, 6, 6, 6, 6, 5, 5, 8, 7. Moyenne : 6.	7, 5, 2, 11, 5, 5, 7, 7, 8, 6, 8. Moyenne : 6,5.
Longueur moyenne de ces racines adventives en cm.	5, 20, 15, 15, 10, 8, 5, 8, 8, 12, 10, 12. Moyenne : 11.	15, 10, 8, 15, 15, 10, 15, 18, 20, 15, 8. Moyenne : 12.
Longueur de la gemmule.	10, 18, 12, 18, 15, 15, 10, 15, 10, 8, 10. Moyenne : 13.	20, 18, 15, 15, 18, 12, 20, 18, 18, 15, 12. Moyenne : 16.

Les résultats des analyses de respiration sont consignés au tableau II.

TABLEAU II.

Mesure des respirations de plantules de *Zea Maïs* traité 48 heures à l'hétéroauxine à 100 mgr. $^0/_{00}$ et non traité (témoins).

Plantules de *Zea Maïs*	Jours de germination					
	2 jours		3 jours		5 jours	
	Témoins	Traitées	Témoins	Traitées	Témoins	Traitées
CO_2 cc. (0° et 760 mm. Hg) par gr. sec et par heure.	0.18	0.19	0.29	0.27	0.56	0.64
Quotient respiratoire . .	0.5	0.56	0.66	—	0.88	0.83
Erreur d'N en %. . . .	0.3	0.4	0.7	0.1	0.3	0
Durée de l'expérience de respiration (en heures).	42	45	21	22	48	48

On voit que pendant le retard de germination provoqué par l'hétéroauxine, il n'y a pas de métabolisme plus élevé chez les

plantules traitées; mais après le 5e jour de germination, quand les graines traitées ont une végétation plus rapide que les témoins, elles respirent avec une intensité accrue.

Dans une autre expérience, nous avons mis à germer 2 lots de 6 graines de même poids, l'un sur papier-filtre imbibé d'eau et l'autre sur papier-filtre imbibé d'hétéroauxine à 100 mgr. $^{0}/_{00}$ pendant 5 jours.

A ce moment, comme dans l'expérience précédente, les plantules traitées sont en retard par rapport aux témoins.

On place ensuite les 2 lots dans les chambres de respiration, sans hétéroauxine. Après 24 heures, les plantules traitées ont à peu près regagné en taille les plantes témoins.

Quarante-huit heures après, les plantules traitées sont plus grandes que les témoins. Les intensités respiratoires sont consignées au tableau III.

TABLEAU III.

Mesure des respirations de plantules de *Zea Maïs* gérmées pendant 5 jours sur l'hétéroauxine à 100 mgr./litre puis mises en chambres de respiration, sans hétéroauxine.

Plantules de *Zea Maïs*	Jours de germination			
	6 jours		7 jours	
	Témoins	Traitées	Témoins	Traitées
CO_2 cc. (0° et 760 mm. Hg) par gr. sec et par heure. . . .	0.73	0.79	0.94	1
Quotient respiratoire	0.7	0.66	1.45	1.48
Erreur d'azote en %	0	0	−0.2	0.15
Durée de la respiration (en heures)	22	21	19	18
Poids sec après respiration . .	—	—	0.7803	0.8236

Les résultats sont la continuation et la confirmation de l'expérience précédente : l'influence du traitement à l'hétéroauxine se marque par un métabolisme accru et une croissance accélérée. Pour autant que les plantules ne restent pas en contact avec les fortes teneurs en hétéroauxine employées, on peut dire, avec Thimann (5), que le traitement des grains et plantules à l'hétéroauxine constitue une sorte de vernalisation, en ce sens que, sans bloquer les activités internes du développement de

la plante, il arrête momentanément les phénomènes de croissance pour les accélérer ensuite. La question qui se pose maintenant est de savoir ce qui se passe pendant l'arrêt de croissance de la plantule ?

Institut Botanique,
Laboratoire de Physiologie végétale, Université de Liége.

BIBLIOGRAPHIE.

1. ROBERTSON PRATT, *American Journal Bot.*, **25** (6), 389, 1938.
2. BONNER, J., *Journal Gener. Physiology*, **20**, 1-11, 1936.
3. KÖGL, HAAGEN-SMIT et VAN HULSEN, *Zeit. Physiol. Chem.*, **241**, 17-33, 1936.
4. PLANTEFOL, *Bull. Soc. Chim. biol.*, **7**, 590, 1925.
5. THIMANN, K. et LANE, *American Journ. Bot.*, **25**, 535-543, 1938.
6. M. BOUILLENNE-WALRAND, *Bull. Soc. roy. Sc. Liége*, mars, 1943.

M. HAYEZ, Impr. de l'Académie royale, 112, rue de Louvain, Bruxelles
(Domicile légal : rue de la Chancellerie, 4)

N° Réf. 2019

LA SACCHAROGÉNIE DE LA BETTERAVE (*)

par **A. WILLAM,**

Assistant à l'Institut Botanique de l'Université de Liège, (1)

INTRODUCTION

Depuis que Margraff et Achard ont attiré l'attention du monde industriel sur la richesse saccharine de la Betterave, c'est-à-dire depuis près de deux cents ans, on se pose la question de savoir d'où provient le saccharose que l'on rencontre en abondance dans la racine de cette plante.

De nombreux chercheurs ont abordé ce sujet. Une première hypothèse est émise en 1878 par DE VRIES (1). A cette époque, la fonction si importante de la photosynthèse est déjà suffisamment connue. On sait que toute matière glucidique est, à l'origine, synthétisée dans les feuilles vertes à partir de gaz carbonique et d'eau, grâce à l'énergie solaire suivant la réaction générale :

$$6\,(CO_2,\ H_2O) \xrightarrow[\text{cellule vivante}]{\text{chlorophylle, lumière}} C_6H_{12}O_6 + 6O_2$$

On n'est pas encore aujourd'hui fixé sur la nature exacte du premier glucide formé. Pour DE VRIES, c'est de l'amidon.

Voici en quels termes s'énonce son hypothèse :

« L'assimilation chlorophyllienne donne lieu à de l'amidon dans les feuilles, cet amidon » se transforme en glucose dans la feuille elle-même, le glucose s'écoule vers la racine, » dans la racine il se polymérise à l'état de saccharose. »

Cette théorie de l'origine du saccharose dans la racine de Betterave ne repose sur aucune donnée précise, car :

1° Elle ne tient pas compte de la composition glucidique réelle des feuilles qui, outre de l'amidon, comme le montrera GIRARD quelques années plus tard, renferment du saccharose, du glucose, du lévulose.

2°) DE VRIES ne prouve pas que le sucre se transporte sous forme de glucose.

3°) Tous les efforts tentés dans le but de mettre directement en évidence la condensation du réducteur en saccharose au contact des tissus de la racine sont restés stériles.

En 1884, paraît le mémoire de A. GIRARD (2). L'auteur démontre que les limbes renferment du glucose, du lévulose et du saccharose. Le saccharose prend naissance dans les feuilles exposées à la lumière. Celui-ci est ensuite délivré à la souche à l'exclusion des sucres réducteurs et d'amidon.

En d'autres termes, selon la théorie d'AIME GIRARD, le saccharose synthétisé dans les limbes des feuilles de Betterave émigre tel quel vers la racine où il s'accumule.

Deux arguments principaux sont invoqués à l'appui de cette thèse : absence de réducteurs dans la racine et disparition durant la nuit, dans les feuilles, d'un pourcentage élevé de saccharose alors que la teneur en réducteurs reste sensiblement constante.

(*) **Conférence faite à Bruxelles, lors de l'assemblée générale statutaire de la Société Technique et Chimique de Sucrerie de Belgique, le 4 juillet 1945.**

(1) Paru dans la « Sucrerie Belge », n^{os} 4, 5, 6 et 7, novembre-décembre 1945.

La critique des bases de cette théorie est aujourd'hui facile. Chacun sait, en effet, que a racine de Betterave sucrière renferme toujours une petite quantité de réducteurs de l'ordre e 0,1 % du poids frais.

Quant à la disparition du saccharose à l'obscurité, cela ne signifie pas nécessairement ue ce gluride émigre comme tel vers la racine. La feuille contient de l'invertase. Le pro-uit d'hydrolyse du saccharose peut être utilisé pour les besoins physiologiques de cet organe.

Les expériences que GIRARD a réalisées en vue de démontrer le transport du saccharose ne sont pas probantes. Divers auteurs, dont H. COLIN, les ont critiquées. Nous partageons ntièrement leur manière de voir.

Au début de ce siècle, des contributions importantes sont apportées au problème. STE-HANI (1911) (3), ROBERTSON, IRVINE et DOBSON (1909 (4) RUHLAND (1911) (5) se réoccupent de la teneur en invertase. Celle-ci, présente dans les limbes et les petioles, est bsente de la racine.

Le lévulose est dosé dans les feuilles par LINDET (1900) (6). Il s'y trouve générale-ment en excès par rapport au glucose.

Grâce surtout à des réactions histochimiques, STRAKOSCH (1907) (7) et PEKLO 1908) (8) tentent de localiser les divers glucides dans les tissus. Se basant sur ces réactions, es auteurs estiment que le transport des glucides s'effectue sous forme de saccharose. Fai-ons toutefois remarquer qu'une théorie de la saccharogénie, basée uniquement sur des éactions qualitatives réalisées au sein même des cellules, est bien fragile. Les réactions d'iden-ification de ce glucide dans les cellules en présence de sucres réducteurs ne sont pas pro-bantes car elles nécessitent une hydrolyse préalable du saccharose.

En résumé, les deux hypothèses en présence concernant l'origine du saccharose dans la acine de la Betterave à savoir :

— Polymérisation du réducteur par la racine,

— Transport du saccharose comme tel des limbes vers la racine,

ne reposaient à cette époque, ni l'une ni l'autre, sur des données expérimentales et analytiques uffisantes.

* * *

Pour sortir de cette impasse, un travail d'ensemble s'avérait nécessaire.

C'est à l'Abbé COLIN que devait revenir le mérite d'avoir, par une technique originale t au prix d'un travail de plusieurs années, dégagé les données principales du problème.

COLIN dans son important mémoire sur « l'Origine et la disparition du Saccharose dans a Betterave » (1916) (9) traite le sujet d'une manière tout à fait personnelle. Il analyse éparément le limbe, la portion supérieure et inférieure du pétiole, le collet, la racine, non seulement au point de vue de la teneur en sucres réducteurs et en saccharose, mais égale-ment au point de vue du contenu en invertase. Le diagramme (fig. 1) réalisé par nous avec es données de COLIN résume ses multiples analyses exécutées sur les Betteraves durant leur ériode végétative.

Le saccharose est peu abondant dans la feuille si on compare sa teneur à celle des éducteurs. C'est l'inverse dans le collet et la racine. On remarque le brusque changement de la teneur en réducteurs et en saccharose entre la partie inférieure du pétiole et la tige.

L'invertase est présente dans les limbes et pétioles mais sa teneur diminue à mesure qu'on approche du collet. Dans la racine de Betterave saine, la teneur en invertase est pra-iquement nulle.

« A la lumière de ces résultats, dit COLIN, dans ses conclusions, il est possible de se » faire une idée de la façon dont les hydrates de carbone émigrent du limbe vers la racine. » Les sucres sont transloqués sous forme de réducteurs et la condensation en saccharose a » lieu au point d'insertion du pétiole sur le collet... »

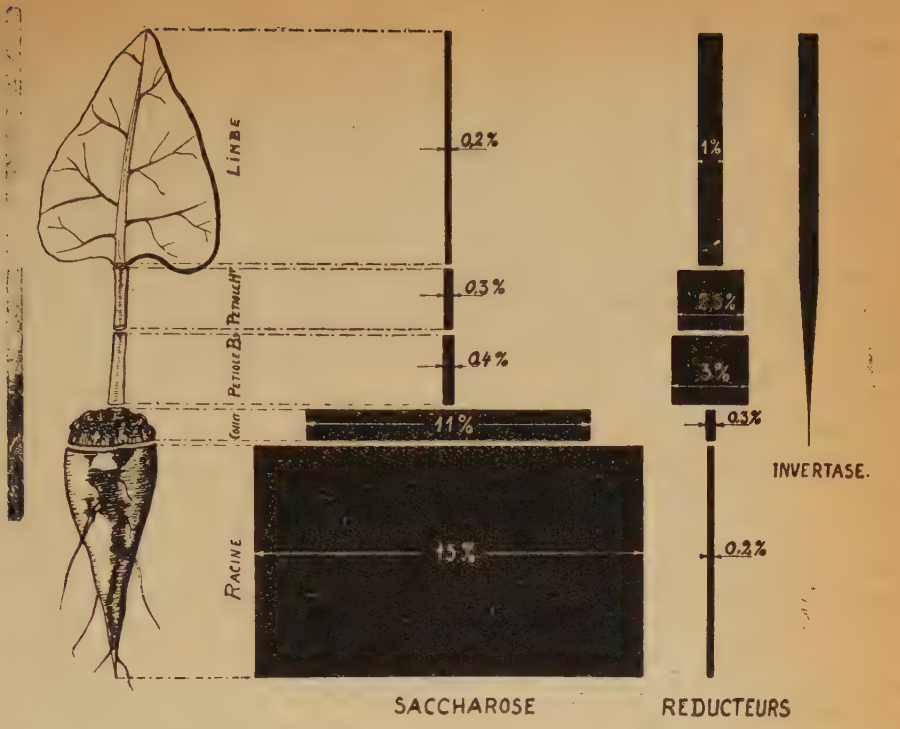


Figure 1

Répartition des glucides dans la Betterave sucrière adulte.
(Diagramme réalisé d'après les données de COLIN (1916) (9).)

« Toutefois, poursuit-il, la théorie de la polymérisation du réducteur par la racine ne » repose pas sur des preuves irréfutables et se heurte elle aussi à de sérieuses difficultés; » la principale est la brusque transformation que l'on observe dans la composition du » mélange des sucres dès les premières assises du collet, ce qui oblige à admettre qu'un petit » nombre seulement de cellules du collet concourent à la condensation du réducteur. On est » sans aucun renseignement sur la façon dont le réducteur pourrait se transformer dans la » racine; cette condensation ne saurait être rapportée à l'action d'une sucrase synthétisante, » l'invertine faisant défaut dans les racines du moins dans les conditions normales. »

A la lecture du travail de COLIN, on est saisi de la simplicité, de la netteté et de la prudence de chaque mot du texte. On sent que l'auteur n'a pas voulu, en vrai savant, faire œuvre dogmatique en s'appuyant sur des bases qu'il qualifie de « pas absolument irréfutables ».

Les conclusions de ses multiples analyses sont logiques. Le saccharose se synthétise à l'endroit où le réducteur disparaît et où le sucre cristallisable apparaît en quantité considérable.

Les doutes émis par l'auteur proviennent du fait qu'à l'endroit où s'effectue la synthèse, on n'a jamais pu expérimentalement — en fournissant par exemple des réducteurs à des fragments de collet — constater une synthèse effective du saccharose.

D'autre part, puisque la synthèse du saccharose semble avoir lieu dans la tige, il faut nécessairement que les réducteurs de la feuille émigrent vers cette partie de la plante. Le fait de doser une quantité appréciable de réducteurs dans le pétiole ne suffit pas pour conclure

leur transport. Pour affirmer que ces sucres sont en mouvement, il faut arrêter la translocation et vérifier l'accumulation.

La seule expérience que COLIN ait tenté dans ce domaine a été réalisée sur des feuilles détachées.

L'auteur compare la teneur en sucres des feuilles séparées de la tige à celle des feuilles en place. Le tableau I résume ses résultats.

TABLEAU I

Tiré de H. COLIN (1916) (9)

FEUILLES EN PLACE				FEUILLES SEPAREES			
Sucre total	Réducteur	Sacch.	Réduct. / Sacch.	Sucre total	Réducteur	Sacch.	Réduct. / Sacch.
0,75	0,48	0,27	1,77	0,83	0,43	0,40	1,07
0,64	0,40	0,24	1,66	0,58	0,31	0,27	1,14
0,64	0,36	0,28	1,28	0,80	0,40	0,40	1,00
0,58	0,41	0,17	2,41	0,65	0,32	0,33	0,96

Que dit COLIN de cette expérience ?

« En expérimentant d'une façon rigoureuse, j'ai constaté moi-même que le sucre total » est en général moins abondant chez les feuilles en place que dans les feuilles séparées de » la racine et qu'en tous cas dans ces dernières, le rapport du réducteur au saccharose est » toujours sensiblement inférieur. Est-ce à dire que dans les feuilles en relation avec la » racine le saccharose élaboré émigre plus rapidement que le réducteur ? Mais alors pour- » quoi ne retrouve-t-on dans les pétioles qu'une très faible proportion de saccharose ? Il est » difficile actuellement, conclut COLIN, de donner à ces faits une interprétation suffi- » sante. »

Aux critiques que COLIN a fait en personne de sa théorie, il y a lieu d'ajouter quelques considérations.

Tout d'abord la différence de teneur et de composition glucidique entre la tige et le pétiole n'a rien d'anormal. Il ne faut pas oublier qu'au point de vue biologique ce sont deux membres et même deux organes différents. La tige n'est pas seulement comme le pétiole un organe de conduction des sucres vers la racine, c'est également un organe d'accumulation. La structure anatomique le prouve. Quant à sa teneur en sucre, nous démontrerons qu'à cet égard, elle doit être placée sur le même pied que la racine.

En conséquence, observer que la tige renferme une forte teneur en saccharose ne signifie pas nécessairement que cet organe synthétise ce sucre. Il peut, comme dans la racine, simplement s'y accumuler, surtout qu'on n'a pas prouvé que le réducteur du pétiole migre dans la tige.

Par ailleurs, examinant les Betteraves de 2e année, COLIN, montre que « à aucun » moment le saccharose ne s'hydrolyse en masse à l'intérieur de la souche, mais la quantité » de réducteur demeure sensiblement constante tant que les tissus se conservent intacts. Le » saccharose quand il émigre, quitte la racine à l'état de saccharose et s'invertit de proche » en proche au contact des cellules de la tige, du pétiole et des limbes. »

Force nous est de constater que le mécanisme de transfert des glucides dans le sens basal-apical est diamétralement opposé à celui qui règle la translocation dans le sens apical-

basal. Dans le 1er cas, le sucre émigre à l'état de saccharose et dans le second cas, l transport s'effectue sous forme de réducteurs.

En résumé COLIN dans son mémoire apparaît comme un pionnier vis-à-vis du prc blème de l'origine du saccharose dans la racine de Betterave. Il ne craint pas de souligner le failles de la théorie de la polymérisation qu'il défend. Au contraire, il les signale et demanc de nouvelles recherches.

* * *

Depuis COLIN, un certain nombre de chercheurs ont tâté le sujet, mais les contributior originales sont rares. Citons TOTTINGHAM et ses collaborateurs (1926) (11), WATSON e BAPTISTE (1938) (12), WATSON et SELMAN (1938) (13), LEONARD (1939) (14).

Ce dernier auteur est le seul qui ait réellement étudié la migration des sucres du limb vers la tige.

Il traite le sujet de deux manières différentes :

1) il analyse comparativement le limbe et le pétiole à différents moments de la journée

2) il compare des feuilles détachées de la plante, placées à l'obscurité ou à la lumière avec des feuilles en place.

Les fluctuations de la teneur en glucose, lévulose et saccharose vont de pair dans le limbes et dans les diverses parties du pétiole.

Est-ce à dire que les trois glucides sont transloqués ?

LEONARD fait judicieusement remarquer qu'il y a dans les pétioles une large portion d glucides que l'on peut qualifier de statique. La discrimination entre glucide emmagasiné e glucide en mouvement est malaisée. Car, il n'y aurait pas seulement un mouvement apical basal dans le pétiole, mais des mouvements latéraux entre les tissus conducteurs et le paren chyme environnant. Cette nouvelle théorie n'est pas démontrée expérimentalement.

Quant aux expériences sur les feuilles détachées, elles prouvent que le mouvement l'obscurité des saccharose, glucose et lévulose des limbes vers le pétiole est peu important. à la lumière, la translocation est plus active. Néanmoins, il n'y a pas accumulation des glu cides à la base du pétiole mais plutôt un engorgement de l'organe en entier. Il n'est guèr possible de distinguer une différence dans l'intensité d'accumulation d'un sucre plutôt qu l'autre.

* * *

Les auteurs soviétiques ont beaucoup travaillé au cours de ces dernières années l question de la saccharogénie. Malheureusement nous n'avons pu, le plus souvent, nous pro curer les articles originaux. Ceux-ci nous sont connus grâce surtout à l'importante monc graphie consacrée à la Betterave sucrière et publiée en 1940 par l'Institut de Recherche scientifiques de l'industrie sucrière soviétique de l'Ukraine (14) (*).

Dans le chapitre consacré à la translocation et à la synthèse du saccharose, nous avor relevé de nombreux points très intéressants mais malheureusement souvent contradictoires C'est ainsi que certains travaux semblent épauler la théorie de la polymérisation. KOVA LENKO (1938) (14), par exemple, localise la synthèse du saccharose dans des régions bie définies du sommet de la tige tandis que d'autres comme VOTCHAL et POTCHYNOK (1937 (14) confirment la théorie du transport et de l'emmagasinage pur et simple du saccharose

Que conclure de cette brève étude des travaux des auteurs ?

Nous nous trouvons en présence d'un nombre important de données fragmentaires ter

---

(*) La traduction et le résumé de cet ouvrage ont été effectués par le laboratoire de Photosyr thèse de la Raffinerie Tirlemontoise (traducteur Dr. O. Lazar).

dant à expliquer l'origine du saccharose dans la racine de Betterave mais dans son ensemble le problème reste entier.

Nous allons le reprendre au point où COLIN l'a laissé voici près de 30 ans, en le plaçant dans le cadre des études entreprises depuis 1938 sur la Biologie de la Betterave sucrière à la fois à l'Institut Botanique de l'Université de Liége et au laboratoire de Photosynthèse de la Raffinerie Tirlemontoise.

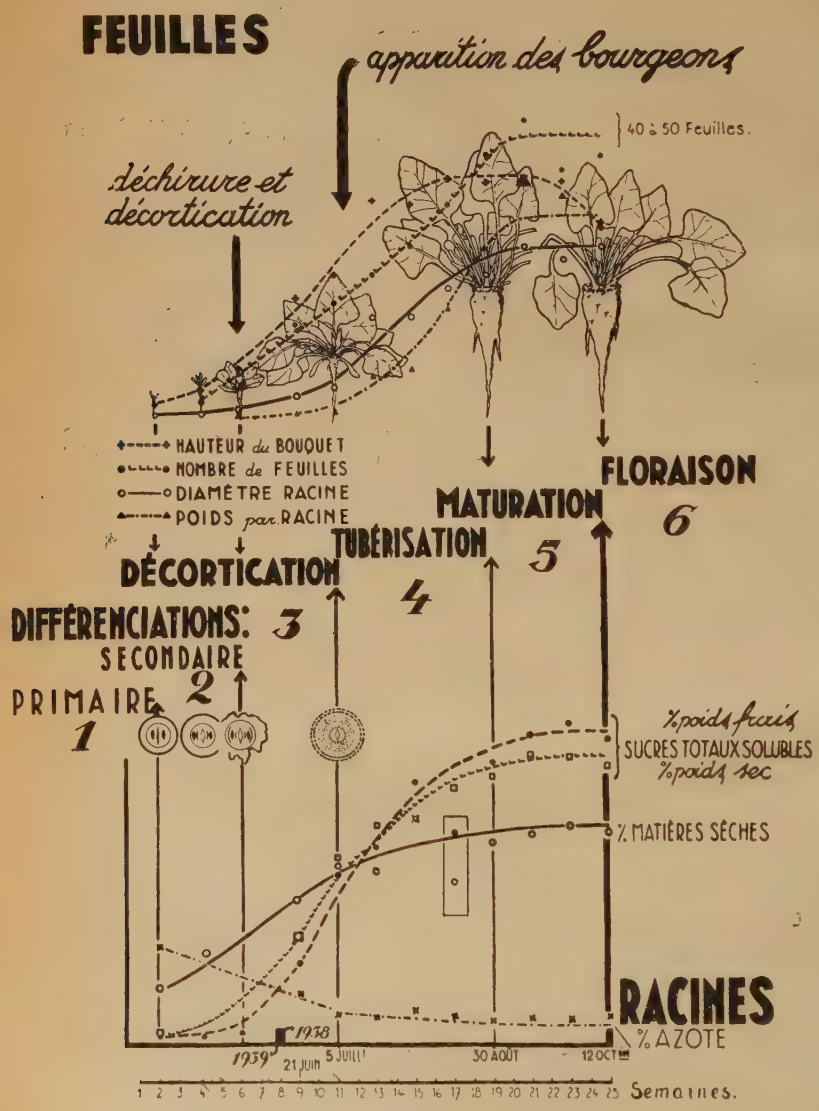


Figure 2

Tableau tiré du mémoire de BOUILLENNE, KRONACKER et DE ROUBAIX (1940) (16) représentant les étapes du cycle végétatif de la Betterave sucrière.

BUT DE LA RECHERCHE, MATERIEL ET METHODES

Comment aborder le problème ?

COLIN nous a montré la voie : Réunir sur la répartition des glucides dans la Betterave le plus de documents possibles. Ce n'est que lorsqu'on possèdera des données suffisantes sur la teneur en sucre des divers membres, parties de membres, tissus de la Betterave, que l'on pourra effectivement et avec chance de réussite, entamer le problème de la Saccharogénie. C'est pourquoi, dans la première partie de nos recherches, que nous exposons dans cette note nous avons principalement effectué des analyses des diverses parties constitutives de la Betterave.

Les dosages ont porté sur les trois glucides suivants : glucose, lévulose, saccharose.

Nous avons délibérément ignoré l'amidon et les dextrines parce qu'il n'est pas possible à un seul chercheur de mener de front une étude qui comporterait en même temps l'analyse des cinq glucides présents dans les limbes et que d'autre part, les sucres fortement polymérisés sont hydrolysés avant leur transport. LEONARD a nettement démontré ce fait pour les dextrines. Quant à l'amidon il se transporte selon les auteurs, sous une forme dégradée.

Le matériel est fixé et extrait à l'eau bouillante, déféqué à l'acétate neutre de plomb suivant les modalités décrites par M. BOUILLENNE-WALRAND et R. BOUILLENNE (1933) (15) et reprises par BOUILLENNE, KRONACKER et de ROUBAIX dans leur mémoire sur « Les étapes morphologiques et chimiques dans le cycle végétatif de la Betterave Sucrière » (1940) (16). L'hydrolyse du saccharose a été réalisée par l'invertase.

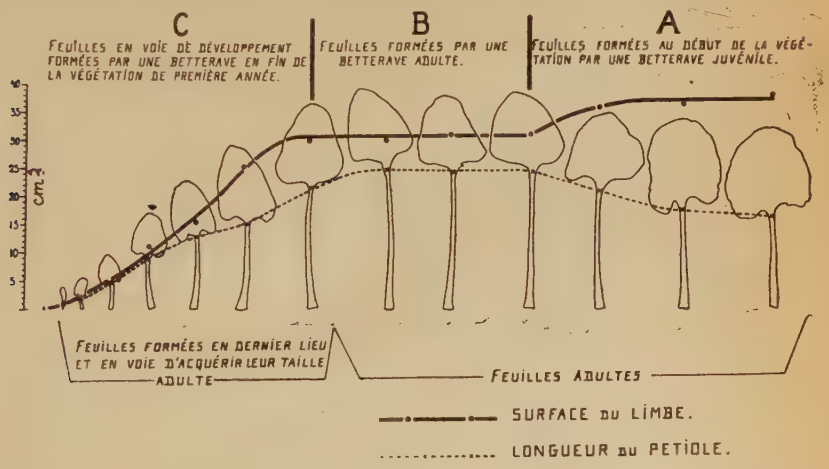


Figure 3

Diagramme récapitulatif des caractéristiques des feuilles de la Betterave Klein Wanzleben N (R. BOUILLENNE, P.-G. KRONACKER, J. DE ROUBAIX, (1940) (16).

Les sucres totaux et réducteurs ont été dosés par la méthode de BERTRAND modifiée légèrement par MUNSON et WALKER (1906) (17). Le lévulose a été dosé par la méthode de NYNS améliorée par JACKSON et MATHEWS (1932) (18). La réduction des liqueurs cuivriques s'effectue dans un thermostat maintenu à 55° ± 0°,1...

Le matériel utilisé est la Betterave sucrière variété HILLESHÖG à petit bouquet foliaire. La culture a été réalisée au Jardin Botanique de l'Université de Liége, durant les années 1942-43-44. (*)

(*) Les glomérules nous ont été chaque année fournis gracieusement par Mr. Decoux, Directeur de l'Institut Belge pour l'Amélioration de la Betterave.

Etant donnés la très grande variabilité de taille et l'aspect des Betteraves les unes vis-à-vis des autres, le choix de l'échantillon aux fins d'analyse revêt une grande importance. Il convient avant tout de s'adresser à des individus morphologiquement semblables et d'âge physiologique identique. A ce sujet, le mémoire de BOUILLENNE, KRONACKER et de ROUBAIX nous fournit de précieuses données. En se basant sur la morphologie, l'anatomie, le contenu chimique, on peut distinguer certaines étapes caractèristiques dans la vie de la plante, telles que différenciation primaire, différenciation secondaire, décortication, tubérisation, maturation (fig. 2).

En ce qui concerne le bouquet foliaire les mêmes auteurs distinguent 3 catégories de feuilles formées à 3 moments différents de période végétative. Ce sont des feuilles des catégories A, B et C (fig. 3).

Le contenu glucidique et le pouvoir photosynthétique de ces diverses catégories de feuilles ne sont pas similaires (de ROUBAIX, 1941) (19).

Il est presque superflu d'ajouter que nous avons tenu compte, lors de nos analyses de feuilles, de ces particularités.

CONTENU GLUCIDIQUE DES DIVERS MEMBRES DE LA BETTERAVE

A l'instar de COLIN, nous avons tout d'abord disséqué les Betteraves en ses différents membres : feuilles, tiges (*), racines; les feuilles divisées elles-mêmes en limbe et en pétiole.

Les résultats des analyses exprimées en % de matière fraîche, sont consignés dans le diagramme ci-contre (fig. 5). Il se rapporte à des Betteraves adultes prélevées entre 9 et 10 h. du matin en août-septembre.

Ce diagramme est en tous points comparable à celui réalisé avec les chiffres de COLIN (fig. 1) pour ce qui concerne le saccharose et les réducteurs (COLIN n'avait pas distingué parmi ceux-ci le glucose du lévulose). Les feuilles adultes (2e bouquet foliaire) renferment normalement plus de lévulose que de glucose dans les limbes mais la proportion inverse s'observe dans les pétioles.

La teneur glucidique de la tige comparée à celle de la racine permet de la placer sur le même pied physiologique que cette dernière : forte teneur en saccharose, trace de réducteur, composé uniquement de glucose; pas de lévulose ni dans la tige ni dans la racine.

Ces premières données sur la répartition des glucides s'affirment-elles déjà sur les jeunes plantes ? Sans entrer dans le détail des analyses, il y a lieu de faire remarquer que le saccharose dans la racine et l'hypocotyle ne s'accumule qu'au stade de six feuilles c'est-à-dire au moment où les formations tertiaires (fig. 2) se développent. La racine, l'hypocotyle et la tige ne renferment à aucun moment de leur croissance du lévulose.

Les cotylédons et les limbes des jeunes feuilles contiennent normalement un pourcentage plus élevé de glucose que de lévulose. Ils sont en voie de croissance. On a constaté l'inverse dans les feuilles adultes, où la croissance est terminée. Cette observation confirme celle de LEONARD (1939) et tend à accréditer l'opinion que le lévulose est surtout utilisé dans les phénomènes de la croissance.

(*) La majorité des auteurs semblent avoir ignoré la tige dans leurs analyses. Pour obtenir celle-ci, il faut sectionner les pétioles un à un, juste à l'endroit de l'insertion. On obtient ainsi un cône que l'on détache du reste du pivot en coupant transversalement celui-ci immédiatement en dessous des cicatrices des premières feuilles. Ce qui reste du pivot peut être considéré comme représentant la racine, la zone intermédiaire entre la tige et la racine — l'hypocotile étant très peu développée en hauteur et difficile à déterminer en ne considérant que l'aspect morphologique de la Betterave (fig. 4).

Photo R. SAUVEUR

Figure 4

Tige de Betterave durant la période végétative.

Ces premières données sur la répartition des glucides dans les divers membres ne sont guère suffisantes pour entamer le problème de la saccharogénie. Il serait en effet souhaitable de posséder des indications plus précises sur le contenu en sucre des limbes, des pétioles et de la tige, la racine étant bien connue à ce sujet.

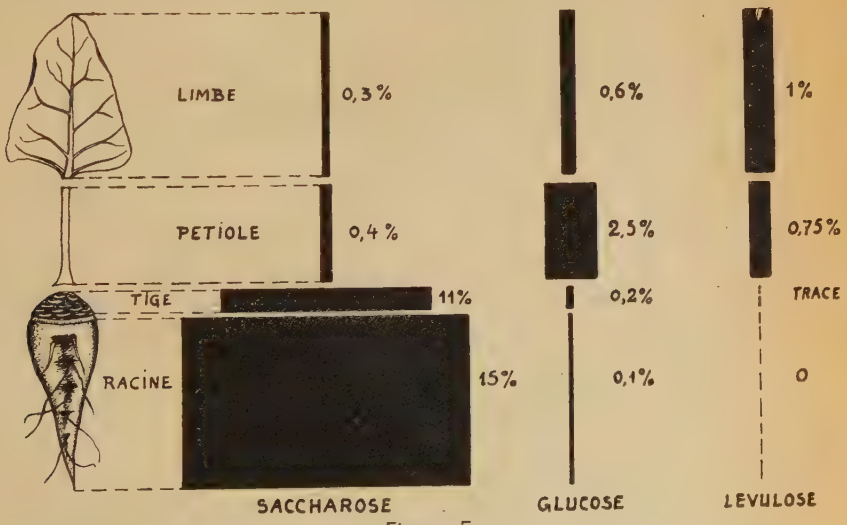


Figure 5

Répartition des glucides dans les divers membres de la Betterave adulte.

DANS LES LIMBES

Les limbes ont été divisés selon leur morphologie, en nervure médiane, nervure primaire, nervure secondaire et limbe dépourvu de ces diverses catégories de nervures (en abrégé « limbe »). Les résultats des analyses effectuées sur des feuilles adultes du 2e bouquet foliaire entre 8 et 10 h. du matin en août-septembre, sont consignées dans le diagramme de la fig. 6.

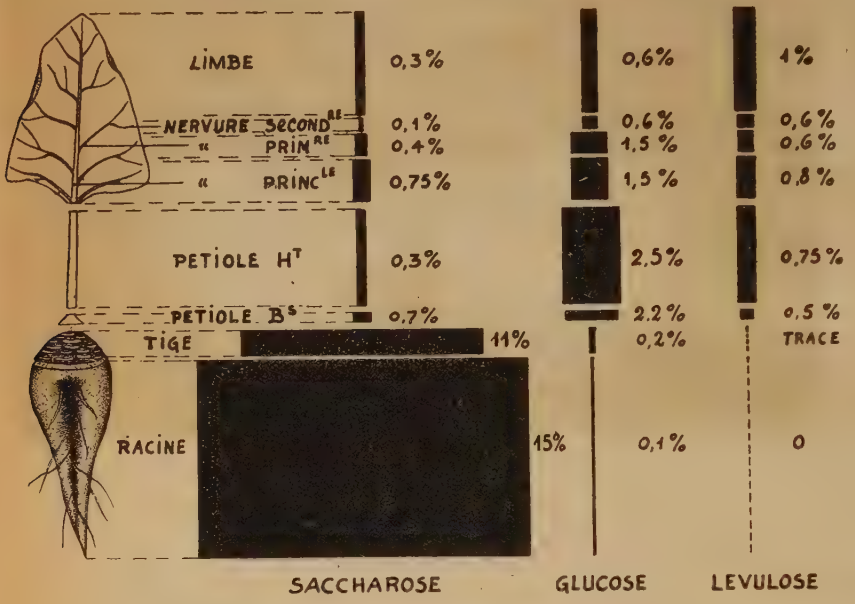


Figure 6

Répartition des glucides dans les différents membres de la Betterave sucrière divisés d'après leur morphologie.

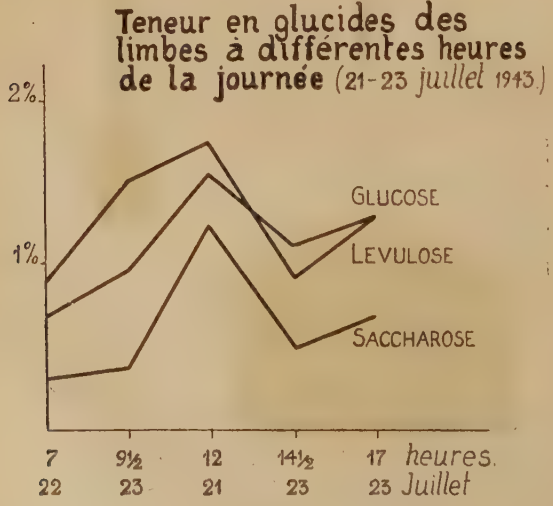


Figure 7

Nous constatons que la teneur en glucides totaux, légèrement inférieure dans les nervures secondaires comparativement au « limbe », augmente fortement dans les nervures primaires et médianes. Cette augmentation est due surtout au glucose et non au saccharose. Ce dernier commence à s'affirmer dans les nervures médianes mais son pourcentage reste encore de loin inférieur aux réducteurs.

Il y a toutefois lieu de faire remarquer que la teneur en glucides des diverses parties du limbe subit d'importantes variations au cours de l'été. Le contenu en sucre augmente progressivement mais d'une façon assez irrégulière. Ce fait est surtout évident pour le lévulose.

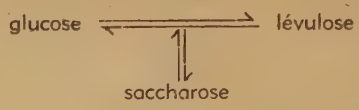
Les analyses effectuées à différentes heures de la journée révèlent également des fluctuations marquées dans le pourcentage des divers sucres (fig. 7).

Les causes en sont multiples : elles relèvent de l'action photosynthétique, de la migration, du métabolisme, sans oublier la propriété que possèdent les limbes d'hydrolyser, de synthétiser, d'isomériser les glucides renfermés dans les tissus.

Figure 8

Coupes transversales dans le pétiole
1) à la partie supérieure; 2) à la partie médiane; 3) à la partie inférieure; indiquant la répartition des faisceaux libéro lingneux.

Nous avons pu démontrer cette dernière action facilement en plongeant à l'obscurité, des fragments de limbe dans des solutions glucidiques connues. Si les tissus ont été au préalable inanitiés, saccharose, glucose et lévulose pénètrent aisément et se transforment les uns dans les autres suivant le schéma :



Les biocatalyseurs responsables de ces transformations entrent en action dès que les produits de la photosynthèse apparaissent. En effet, lorsque l'on expose à l'action solaire des limbes, préalablement vidés de leur contenu en sucre par un séjour prolongé à l'obscurité, on constate rapidement la présence à la fois du glucose, du lévulose et du saccharose.

Le fait que dans les tissus des limbes les glucides subissent de faciles transformations enlève tout crédit aux travaux qui se basent uniquement sur la disparition plus ou moins complète de tel ou tel sucre pour conclure à son transport hors du limbe.

DANS LES PETIOLES

En section transversale, le pétiole a la forme d'un triangle à base concave mais à 2 ou 3 cm. du point d'insertion sur la tige, il s'applatit et s'élargit considérablement (fig. 8).

Nous basant sur ces caractères morphologiques, nous avons scindé le pétiole en deux tronçons en vue de nos analyses. La portion inférieure comprend la base élargie et la portion supérieure englobe tout le reste du pétiole.

La portion inférieure est plus riche en saccharose que la portion supérieure, c'est l'inverse pour les réducteurs (fig. 6).

Contrairement aux limbes, la teneur en glucides des pétioles varie peu au cours de la journée et au cours de la saison. Elle est également assez constante dans toute la portion supérieure du pétiole. Des analyses effectuées à différents niveaux révèlent de faibles différences. Il n'en n'est pas de même dans la portion inférieure au voisinage de la tige.

DANS LA BASE DU PETIOLE ET LA PORTION EXTERNE DE LA TIGE

L'examen du diagramme de la fig. 6 laisse supposer que l'on passe brusquement de moins de 1 % de saccharose dans la base du pétiole à 11 % dans la tige.

Lorsque l'on analyse des quantités de tissus suffisamment ténues prélevées au voisinage du point d'insertion du pétiole sur la tige (fig. 9) on constate qu'à l'extrême base du pétiole, le lévulose tend à disparaître, le glucose diminue fortement et le saccharose augmente. Ces variations dans la teneur en sucre amorcées à la base du pétiole s'amplifient dès l'entrée dans la tige (*).

* * *

En **résumé,** l'étude de la répartition des glucides dans les diverses parties morphologiques des feuilles nous a permis de constater que le saccharose existe dans le limbe dépourvu de ses nervures. Sa teneur ne dépend pas directement de l'action photosynthétique puisque ce sucre apparaît dans les feuilles placées à l'obscurité et alimentée artificiellement en sucres réducteurs.

(*) Ces résultats concordent avec ceux obtenus par MM. de ROUBAIX et O. LAZAR du laboratoire de Photosynthèse de la Raffinerie Tirlemontoise. Le travail de ces auteurs est en voie de publication. Il nous a été aimablement communiqué à l'état de manuscrit.

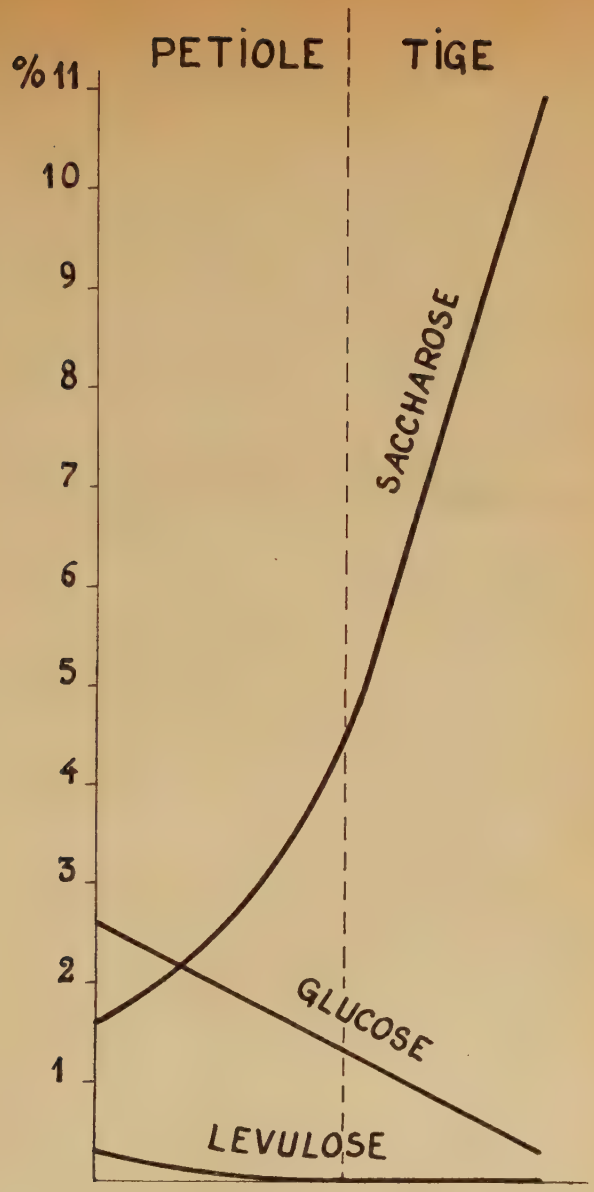


Figure 9
Répartition des glucides au point d'insertion du pétiole sur la tige.

Le saccharose disparaît plus ou moins dans les nervures secondaires, son pourcentage s'affirme dans les nervures primaires et surtout médiane pour diminuer dans la portion supérieure du pétiole. L'ordre de grandeur des fluctuations est néanmoins faible.

A la base du pétiole, un peu avant le point d'insertion sur la tige la teneur en saccharose s'accroît rapidement. Quand on passe du pétiole dans la tige une augmentation brusque a de nouveau lieu.

Quant aux réducteurs ils sont abondants dans le limbe et surtout dans le pétiole comparativement au saccharose.

Au point d'insertion du pétiole sur la tige les réducteurs diminuent, surtout le lévulose.

Dans la tige, le réducteur n'est guère plus abondant que dans la racine et est constitué uniquement par du glucose comme dans la racine.

Si nous devions tirer des conclusions, concernant la saccharogénie, de ces analyses sur la répartition des glucides au sein des diverses parties morphologiquement constitutives des feuilles, nous ne pourrions le faire qu'en adoptant comme COLIN, la théorie de la polymérisation et les critiques que nous avons formulées à cet égard n'ont pas été effacées même partiellement dans cette première partie de notre recherche.

Arrivé à ce stade dans nos travaux, une nouvelle orientation s'impose. Abandonnant les analyses d'organes ou de portions d'organes, **nous nous sommes adressés aux tissus.** Les premiers dosages ont porté sur les tissus du pétiole et de la tige.

CONTENU GLUCIDIQUE DES DIVERS TISSUS DE LA BETTERAVE

Le pétiole des feuilles de Betterave renferme surtout du tissu parenchymateux et du tissu conducteur (faisceaux libéro-ligneux). Les tissus protecteurs (épiderme) et de soutien (collenchyme) très peu importants quant au volume n'ont pas retenu notre attention; ils ont été, lors de nos analyses, englobés dans les tissus parenchymateux .

TABLEAU II

Parenchyme et faisceaux du pétiole.

SACCHAROSE						GLUCOSE						LEVULOSE					
23/6/43	6/9/43	14/9/43	22/9/43	23/6/44	16/8/44	23/6/43	6/9/43	14/9/43	22/9/43	23/6/44	16/8/44	23/6/43	6/9/43	14/9/43	22/9/43	23/6/44	16/8/44
		0,75						2,50(1)						0,80			
),09	0,13	0,10	0,34	0,10	0,35	1,95	2,45	2,20(2)	2 12	1,00	2,50	0,47	0,80	0,63	0,70	0.35	0,84
		0,54						2,00(3)						1,00			
		1,26						2,05(4)						0.23			
		2,85						2,16(1)					trace 0,0	trace			
,36	3,98	3,29	3,30	2,42	4,17	1,35	1,24	1,89(2)	0,89	2,36	2,11	trace	0,10	0,0	0,0	0,0	trace
		4,20						1,03(3)					0,10	0,0			
		5,85						1,32(4)					0,10	0,0			

Dans l'expérience du 14/9/43 concernant la teneur en glucose, (1) représente la teneur des tissus extraits dans la portion du pétiole voisine du limbe, (2) (3) (4) dans des portions de plus en plus voisine de la base du pétiole. Il en est de même pour le saccharose et le lévulose.

Avant de disséquer le pétiole, nous avons étudié la disposition des divers tissus en coupes transversales sériées. Lorsque nous avons eu des connaissances anatomiques personnelles suffisantes, il nous fut alors possible de séparer les faisceaux libéro-ligneux du tissu parenchymateux environnant.

Le résultat d'analyses de tissus effectuées à différents niveaux du pétiole sont consignés dans le tableau II.

Le saccharose est surtout concentré dans les tissus conducteurs et la teneur augmente à mesure qu'on se rapproche de la tige.

Le lévulose est normalement absent des faisceaux libéro-ligneux.

Le glucose se rencontre à la fois dans les faisceaux et dans le parenchyme, néanmoins sa teneur est plus élevée dans ce dernier tissu.

Nous avons également tenté d'isoler les faisceaux libéro-ligneux de la tige mais nous n'avons pu y parvenir tellement grandes sont la densité et la complexité du parcours de ceux-ci.

Nous avons contourné la difficulté en séparant en coupe transversale la région périphérique bourrée de faisceaux de la moëlle centrale parenchymateuse.

Nous avons constaté qu'à l'instar du pétiole, le saccharose est surtout concentré dans la région qui renferme les tissus conducteurs tandis que c'est l'inverse pour le glucose.

Ces premiers résultats sur la teneur en sucre des tissus conducteurs du pétiole permettent désormais de poser convenablement le problème de l'origine du saccharose dans la racine de Betterave et d'en espérer sous peu une solution satisfaisante.

VERS UNE SOLUTION DU PROBLEME DE L'ORIGINE DU SACCHAROSE DANS LA RACINE DE LA BETTERAVE SUCRIERE

Le fait que le saccharose du pétiole est concentré presqu'exclusivement dans les faisceaux libéro-ligneux jette quelque clarté sur des questions pendantes et que nous avons relevées dans l'étude des travaux des auteurs.

Les résultats des expériences sur les feuilles détachées de COLIN (tableau I) reçoivent une première explication. Si le saccharose se trouve dans les tissus conducteurs, il est logique d'admettre qu'il émigre facilement.

D'autre part, **la transition brusque entre le pourcentage en saccharose de la base du pétiole et celle de la tige se comprend aisément si on tient compte de la densité relative des faisceaux dans chacun de ces organes.** A la base du pétiole les faisceaux libéro-ligneux occupent environ la 1/10^{e} partie de celui-ci, dans la portion périphérique de la tige c'est le 1/4 au moins qu'ils occupent.

Quand on passe du pétiole dans la tige non seulement le volume occupé par les faisceaux s'accroît rapidement, mais à l'intérieur de ceux-ci la teneur en saccharose augmente également.

Si on admet que les faisceaux libéro-ligneux sont effectivement les tissus conducteurs de la plante, la saccharogénie devient avant tout une question de translocation. Le centre d'intérêt se déplace du sommet de la tige, zone de polymérisation présumée par les partisans de cette théorie vers le pétiole et le limbe, vecteurs de saccharose.

Est-ce à dire que nous adoptons la théorie suivant laquelle le saccharose de la tige et de la racine serait uniquement édifié dans les limbes et pétioles et transloqué tel quel à l'exclusion des réducteurs ?

Non.

Avant de prendre position il faut être fixé sur le rôle joué par les réducteurs contenus dans les faisceaux libéro-ligneux et dans le parenchyme du pétiole.

La présence de réducteur (tableau II) dans nos analyses de faisceaux provient peut-être du fait qu'en même temps que ceux-ci nous isolons quelques cellules parenchymateuses environnantes.

Quant aux réducteurs du parenchyme, deux hypothèses sont à envisager.

Sont-ils en mouvement ou sont-ils emmagasinés ?

S'ils sont en mouvement, descendent-ils vers la tige et s'y polymérisent-ils à l'entrée, ou la transformation en saccharose a-t-elle lieu lors du passage dans le sens radial du parenchyme dans le phloème ?

Ces questions ne pourront être résolues que le jour où l'on aura analysé, non pas les faisceaux libéro-ligneux, mais le liber seul et, si l'on veut pousser l'exactitude jusque dans ses derniers retranchements, c'est le contenu des tubes criblés du phloème qui nous apportera la vraie solution.

Il nous est particulièrement agréable, en terminant, de signaler les personnalités et les Institutions qui nous ont apporté une aide effective au cours de cette recherche. Nos remerciement s'adressent spécialement à Monsieur le Professeur Bouillenne, à Madame Bouillenne-Walrand et au personnel de l'Institut et du Jardin Botanique de l'Université de Liége, à Messieurs les Dr. Baerts, de Roubaix et O. Lazar de la Raffinerie Tirlemontoise; à Monsieur Decoux, Directeur de l'Institut Belge pour l'Amélioration de la Betterave; à la Société Technique et Chimique de Sucrerie de Belgique et au Fonds National de la Recherche Scientifique qui a largement subsidié cette étude.

Institut Botanique de l'Université de Liége.
Laboratoire de Biologie des Plantes Industrielles et Coloniales.

BIBLIOGRAPHIE

1. DE VRIES, Neue Zeitschr. fur Rubenzuckerind., 1878.
2. A.GIRARD, C. r. As. Sc. **97,** 1305-1308, 1883; **99,** 808-811, 1884.
3. STEPHANI W., Kuhn-Archiv. **1,** 107-182, 1911.
4. ROBERTSON R., IRVINE J. C., DOBSON M. E., Biochem. Journ. **4,** 258-273, 1909.
5. RUHLAND W., Jahrb. wiss. Bot., **50,** 200-257, 1911.
6. LINDET M. L., Ann. Agron. **26,** 103-113, 1900.
7. STRAKOSCH S., Sitzber. Kais. Akad. Wiss. Wien **116,** 855-869, 1907.
8. PEKLO J., Oest. Ung. Zeit. Zuckerind. **37,** 153, 1908.
9. COLIN H., Rev. Gén. Bot. **28,** 289, 321, 368, 1916; **29,** 21, 56, 89, 113, 1917.
10. TOTTINGHAM W., LEPKOVSKY S., SCHULZ E. R., LINK K., Journ. Agric. Res. **33,** 59-76, 1926.
11. WATSON D. J., BAPTISTE E., AN. of Bot. **2,** n° 6, avril 1938.
12. WATSON D. J., SELMAN I., Ann. of Bot. **2,** n° 8, oct. 1938.
13. LEONARD A. O., Plant Phys. n° **1,** 55-75, janv. 1939.
14. Inst. Rech. Sc. Ind. Sucr de l'Ukraine, Ed. de l'Etat, KIEW 1940.
15. M. et R. BOUILLENNE, Bul. Ac. Roy. Belgique, 849-866, juillet 1933.
16. R. BOUILLENNE, P. KRONACKER, J. DE ROUBAIX, Inst. Belge Améliorat. Bet., n° 3, 1940.
17. MUNSON L. S., WALKER P. H., Journ. Amer. Chem. Soc. 28, 663-686, 1906.
18. JAKSON R. F., J. A. MATHEWS, U. S. Bureau of Standards Journ. of Res. **8,** 403-444, 1942.
19. DE ROUBAIX, Sucrerie Belge, 38-45, 59-74, 1941.

ALTÉRATIONS DANS LES TOURBIÈRES DE HAUTE-BELGIQUE EN RAPPORT AVEC LES PLANTATIONS DE RÉSINEUX

par Ray. BOUILLENNE

Professeur à l'Université de Liége

Nous avons publié à différentes reprises (1934-37) un certain nombre d'observations sur l'hydrologie des tourbières du Plateau de la Baraque Michel. Celles-ci sont des ensembles qu'il convient de comparer aux Hoch Moor par leur constitution et leur végétation. Cependant, elles sont d'un type particulier, distinct de la plupart des Hoch Moor nordiques, souvent formés dans des dépressions d'eau stagnante, mal drainées et alimentées par la pluie. A la Baraque Michel, nous nous trouvons en présence de tourbières de pente alimentées régulièrement par des sources qui sont situées au sommet du plateau et dont l'eau abondante même en période de sécheresse, circule à travers la masse et vient s'ajouter aux eaux météoriques tombées sur la surface.

Il résulte de cette situation plusieurs faits importants que nous avons décrits précédemment :

1) Les eaux sont noires ; elles ont assez généralement un pH de 4,6 différent de celui de l'eau de pluie et de celui des eaux de sources.

Celles-ci ont un pH remarquablement constant, de 5,0 à 5,4 selon les endroits (voir les observations de L. Delaige, C. R. A. F. A. S., 1940).

2) A cause de la pente, les tourbières sont parcourues par une circulation plus ou moins rapide de l'eau qui se creuse des galeries et même de petites grottes. Ce n'est pas le cas des tourbières de plaines qui sont des marécages le plus souvent fermés et dont l'eau est stagnante.

3) Ces tourbières ont un ou plusieurs exutoires en aval, que d'aucuns non attentifs à la végétation typique qui les entoure pourraient prendre pour des sources mais qui sont les résurgences hors de la tourbe des eaux météoriques augmentées des eaux des sources (moins l'évaporation) (voir F. Darimont, C. R. A. F. A. S., 1940).

4) Ces eaux peuvent ou bien rentrer dans la profondeur d'une tourbière située immédiatement en aval de la dépression dont elles sortent ou circuler à l'air libre. Dans ce cas ou bien, elles forment des ruisseaux qui suivent le profil du terrain, ou bien elles courent sur l'argile perméable d'un « sètch champ », champ sec, qui, comme c'est le cas en plusieurs endroits, s'étale sur une partie de la pente et sépare deux séries de tourbières ; elles pénètrent ensuite dans les dépressions tourbeuses situées plus bas.

5) Ces « sètch champs » ne sont pas toujours situés sur les sommets, ainsi que beaucoup le pensent d'après les caractéristiques du plus typique d'entre eux (ligne de faîte Baraque Michel—Botrange) ; ils peuvent se présenter aussi ou bien sous forme de replat (celui qui sépare les Trous Brouly des tourbières de la Statte et de la Hoëgne) ou bien sous forme de zone en rupture de pente (celle qui se marque entre les tourbières du signal de la Baraque et de la Cabane de Durhet). La pluie y constitue des nappes phréatiques locales, lesquelles peuvent s'enrichir de l'apport abondant des eaux sortant des tourbières situées à un niveau plus élevé sur les pentes. Les eaux sortent de ces sètch-champs à leurs parties les plus basses et y forment des lignes de sources.

6) Ces eaux de diverses origines et de qualités différentes commandent la distribution des associations végétales des tourbières.

Evolution régressive en conséquence du drainage

Grâce à la connaissance que l'on peut acquérir de tout ce régime hydrologique spécial, on se rend compte aisément des conséquences du creusement de fossés nombreux formant les réseaux de drains établis par les services d'exploitations forestières à travers tourbe et terre ferme.

La campagne d'assainissement commencée il y aura bientôt trois quarts de siècle a une répercussion considérable sur la circulation des eaux ; elle aboutit à la mort des tourbières comme entités biologiques.

Le drain passant sur une tourbière a deux actions : d'un côté altération de la végétation, de l'autre, altération de la tourbe.

A. — *La végétation*

Le drain entame la végétation épaisse du *Sphagnetum* et du *Callunetum* qui est lui-même toujours implanté sur coussins de mousses. Ce tapis ininterrompu tient en suspension par capillarité une étonnante quantité d'eau qui flue très lentement de feuilles microscopiques en feuilles selon la pente, comme le long d'une mèche immense. De plus, les cellules spécialisées des feuilles de *Sphagnum* fonctionnent comme magasin d'eau. Cela constitue une sorte de *nappe aquifère superficielle* au-dessus de la nappe aquifère de la tourbe ou du sol, nappe aquifère vivante, transpirante, qui refroidit l'atmosphère localement par son intense évaporation, à tel point qu'on s'en aperçoit en arrivant au-dessus d'un *Sphagnetum* (voir mesures et observations de L. Tinbergen, C. R. A. F. A. S., 1940). L'épaisseur moyenne de ce tapis végétal est de 0,15 à 0,25 m.

La quantité d'eau que peut retenir le *Sphagnetum* fait l'objet de recherches au laboratoire du Mont Rigi. Celles-ci confirment les observations déjà anciennes de M. l'abbé Boulay (Flore cryptogamique de l'Est de la France) qui a calculé la quantité d'eau emmagasinée dans la couverture des Muscinées occupant d'une manière continue le sol de certaines forêts du département des Vosges (Saint-Dié, 30.000 hectares). Un mètre carré de Mousses (*Hypnum*, div. sp.) pèse, en moyenne, 6 kilos après une forte pluie et 1 kilo après quelques jours de sécheresse. C'est ainsi que ce tapis retient, à la suite d'un orage précédé d'un temps chaud et sec, au moins 1.500.000 mètres cubes d'eau. Cette masse énorme remplirait un canal de 20 m de large, d'une profondeur de 5 m, sur une longueur de 15 kilomètres.

Il ne peut être question de comparer cette masse d'eau à un lac car ici, elle est incorporée à des cellules vivantes, elle adhère à la surface multiple des feuilles et des tiges, elle occupe des espaces microscopiques, elle s'accumule dans les poches que les irrégularités des coussins végétaux ménagent à la surface et elle a une surface d'évaporation considérable. Pour comprendre cette situation, il faut avoir vu une fagne vierge et avoir voulu la traverser.

La seule fagne du plateau de la Baraque Michel qui n'ait pas encore été drainée complètement et dans laquelle nous avons découvert (1931) l'association à *Empetrum nigrum*, unique en Belgique, nous a révélé lors d'une fonte brusque de neige (Noël 1936) quelle quantité d'eau peut ainsi être retenue en équilibre sur une pente faible ; il ne fut pas possible de la traverser tandis que le même jour, les fagnes voisines entrecoupées de fossés, étaient parcourues presque à pied sec ; mais elles prenaient des aspects d'inondation au carrefour des grands drains.

Dès qu'une solution de continuité est pratiquée dans le tapis superficiel des tourbières, le niveau de l'eau s'abaisse aussitôt. La végétation couvrant les flancs des fossés fonctionne comme une mèche qui parviendrait à vider une assiette remplie d'eau. On voit, après les pluies, des filets d'eau couler le long des *Sphagnum* pendant dans les rigoles. La perte d'eau que le fossé provoque se transmet au loin dans le tapis

végétal qui peut ainsi, en concurrence avec sa transpiration, se vider très rapidement et complètement, comme on le constate quand les coussins de mousse deviennent blanchâtres.

Les fossés, même anciens et partiellement comblés de végétation, gardent encore en Fagne, quoi qu'on en pense généralement, une grande activité.

Dans les conditions normales, sur la pente des tourbières, cette nappe aquifère se vide lentement, de soi-même, au profit des ruisseaux et de l'évaporation intense qui refroidit localement l'atmosphère. Il ne peut venir à l'esprit d'aucun observateur scientifique d'assimiler (on l'a fait en Belgique, Boudru, 1937) l'épaisseur vivante de la végétation des tourbières à une surface nue comme celle des steppes semi-arides du Middle West américain (Prairie, que certaines stations expérimentales étudient).

La conséquence du drainage est d'épuiser dans un temps très court cette réserve aquifère superficielle. Ce serait une dangereuse illusion de croire que le drain en fagne peut enrichir un barrage. Il n'amènera jamais plus d'eau qu'il n'y en a dans la réserve, et, en dernière analyse, qu'il n'en est tombé sous forme de pluies.

Cette pratique est inutile puisqu'elle remplace par un autre l'excellent magasin d'eau que constitue le tapis végétal lui-même, lorsqu'il est intact. De plus, elle est préjudiciable à la stabilité des équilibres écologiques de la région, puisqu'elle a pour résultat de supprimer à jamais la possibilité de reconstituer cette réserve d'eau si utile : 1) à cause des drains qui continuent à fonctionner ; 2) à cause des répercussions que la présence de ceux-ci provoque, d'une part, dans la couverture végétale : disparition des associations des espèces hydrophiles typiques (*Sphagnetum*, *Callunetum*, etc.), apparition du *Molinietum*, et d'autre part, altération des propriétés physico-chimiques de la tourbe sous-jacente ; 3) à cause des changements probables du climat local (voir Tinbergen, mémoires Soc. Roy. Sc. Liége, 1940).

On ne dira jamais assez quelle perturbation subit le régime normal des eaux, dès que le tapis végétal d'une tourbière de pente est entamé. Un des cas les plus évidents d'altération est celui de la rivière Soor, que le drainage a rendue torrentielle et dont les tourbières d'amont, actuellement ravinées de cañons impressionnants, doivent être aujourd'hui considérées comme tourbières « mortes » (voir ci-après).

B. — *La tourbe*

Le drain qui passe sur la tourbière intéresse la tourbe elle-même et pose un autre problème.

Dès l'ouverture d'un fossé, on constate que la surface de la tourbière s'affaisse nettement et sur une grande distance. Le colloïde lâche une quantité d'eau considérable, il se désimbibe et diminue de volume comme un hydrogel de gélatine en voie de dessiccation. La sous-imbibition provoquée par le drain produit un appel d'eau qui épuise peu à peu la tourbière tout entière sur une épaisseur égale à celle

du fossé dans le cas des régions horizontales, mais bien davantage dès qu'il y a pente.

Les fossés recoupent, en outre, le réseau de circulation de la *nappe aquifère* qui existe dans la tourbe et qui, dès lors, se vide très rapidement, librement, non plus sous forme de suintements dans les fissures compliquées de la masse tourbeuse. Les fossés passent également par les lignes de sources et celles-ci, une fois ouvertes, laissent couler, à flot, les réserves d'eau des sètch-champs qu'elles distribuaient lentement aux tourbières, lorsque la végétation et la tourbe les encombraient.

Il en résulte donc que les fossés de drainage ont pour effet de dessécher la masse de tourbe environnante, d'épuiser la nappe aquifère qui circule dans son épaisseur par élargissement des voies, d'ouvrir les sources et de les tarir.

La tourbe se transforme superficiellement en une croûte qu'on peut voir dans la tranche des tourbières exploitées ; cet aspect est dû à la modification profonde que subit le complexe colloïdal tourbeux. Cette croûte est devenue incapable de se réimbiber normalement, comme l'ont montré les travaux de Closset et Crucifix (1937). Elle perd sa végétation caractéristique. Le *Molinietum* qui s'installe ensuite ne garde pas autant d'eau que le *Sphagnetum* initial.

La liste des fagnes ainsi transformées en Belgique par le drainage serait trop longue. On peut dire que c'est la majorité à l'heure actuelle. Je signalerai seulement l'une d'elles, celle « des deux Séries » parce qu'elle est l'objet de diverses confusions graves. Parmi les forestiers, l'on considère ce territoire comme une fagne ; mais on sait bien qu'il n'est plus qu'un *Molinietum* presque pur : il est l'aboutissement d'une campagne complète d'assainissement suivie d'une plantation faite avant 1914 déjà (1). Ces bois ayant brûlé en 1911, on a pris la décision, si sympathiquement maintenue jusqu'aujourd'hui, de ne plus y reprendre de plantation d'*Epicéas*. Il s'agit en somme d'un *Molinietum* drainé dont les couches de tourbe sont depuis longtemps altérées jusqu'à une grande profondeur et ne fonctionnent plus comme une fagne normale, au point de vue du régime des eaux, de la nature de la végétation, de la qualité de la tourbe. C'est ce territoire que l'on utilise pour démontrer l'insuffisance des fagnes dans la régulation du régime des eaux (Boudru, 1937). L'on parle aussi souvent des coups d'eau qui sont observés après pluies à leur arrivée dans le lac de la Gileppe! Je serais heureux d'apprendre quelles fagnes vierges pourraient être choisies comme responsables ; car, lorsqu'on examine le bassin hydrographique de la Gileppe, on constate qu'il ne comporte aujourd'hui aucune tourbière de dimension appréciable, sauf évidemment celles qui sont plantées.

Des considérations A et B, je conclus que le drainage d'une tourbière :

(1) Sauf certains carrés déjà délimités par les drains, qui furent, après 1905, considérés comme réserve de fagne.

1° dessèche la nappe aquifère importante qui séjourne superficiellement dans l'épais tapis de la végétation typique des fagnes et modifie la nature de ses associations utiles ;

2° dessèche la tourbe et altère irréversiblement ses propriétés colloïdales vis-à-vis de l'eau ;

3° vide la nappe aquifère qui circule dans et sous la tourbière et introduit dans la profondeur de celle-ci les mêmes causes d'altération qu'en surface ;

4° continue à fonctionner aussi longtemps que la dénivellation des fossés et leur érosion marquent un abaissement du niveau hydrostatique ; même si la paroi des drains est partiellement couverte de végétation, celle-ci agissant comme une mèche ;

5° fait disparaître rapidement un capital d'eau dont la distribution lente au bas des pentes donne aux ruisseaux un débit régulier. Les ruisseaux descendant des fagnes drainées (la Soor par exemple) ont tari pendant l'assez forte sécheresse de 1933-1934 et après les pluies ont manifesté des à-coups de régime ; ils ont donc acquis un régime torrentiel ;

6° crée des modifications dans la structure physico-chimique de la tourbe telle que la tourbière drainée ne peut plus se saturer normalement par la pluie, ne peut plus régulariser le régime de l'eau et se comporte tout au plus à la manière d'un ensemble de fossés ;

7° paraît être justifié par l'opinion que le rôle régulateur d'une fagne vierge au point de vue du régime des eaux est nul et qu'un régime forestier vaut mieux ; mais, les exemples choisis pour cette démonstration sont ceux des fagnes ruinées, alors qu'il existe encore des fagnes vierges à examiner. Heureusement, que les écologistes qui ont pu en étudier quelques-unes relèvent la confusion et protestent contre cette erreur d'observation.

8° a pour résultat paradoxal de détruire une réserve d'eau importante et équilibrée avant d'en rétablir une autre, celle que maintiendraient les plantations d'Epicéas. Celles-ci exigent, en effet, un vigoureux et préalable assainissement du terrain. En vérité, la campagne de plantation n'a d'autres mobiles qu'un rendement économique que les fagnes, comme telles, n'ont pas ;

9° au total, ne pourra jamais donner aux rivières ou aux barrages une quantité d'eau supérieure à l'eau météorique qui est tombée sur la région considérée (moins le coefficient d'évaporation).

Que l'on oblige les eaux de pluie à s'accumuler dans un lac ou qu'on laisse agir à son gré le tampon régulateur des tourbières naturelles ou même qu'on y substitue celui des plantations artificielles, le résultat sera le même au bout de l'année. Evidemment dans un lac, la réserve est immédiatement disponible. Si elle permet une consommation considérable, personne n'a jamais soutenu sérieusement qu'un drain amenait plus d'eau dans un barrage qu'il n'y en avait dans le bassin hydrographique en question. Quoi qu'on fasse, on ne pourra jamais consommer plus d'eau qu'il n'en est tombé, mais on pourra uniquement s'illusionner au début d'une campagne de drainage jusqu'au

moment où les réserves seront épuisées. Tout besoin d'eau supplémentaire nécessite des interventions d'un autre ordre : capter les eaux d'autres bassins hydrographiques ou bien, si c'était possible, provoquer des pluies plus abondantes ;

10° a réussi médiocrement dans le but assigné, car les peuplements de résineux, tous comptes faits, ne prospèrent pas sur une épaisseur de tourbe drainée qui dépasse environ 0,50 m.

Ainsi donc, le drainage des tourbières exigé par le programme de la plantation de bois d'Epicéas n'est qu'un leurre ; car, il ne fait que remplacer un système naturel de régularisation du régime des eaux par un autre qui est artificiel et qui est loin d'être meilleur. Cette substitution s'est faite, jusqu'à présent, sous la poussée d'intérêts économiques, peut être légitimes. Ceux-ci ont pour résultat non seulement de faire disparaître les tourbières, de ruiner les complexes biologiques caractéristiques du Haut Plateau ; mais aussi, de diminuer définitivement l'importance de la réserve des eaux de pluie et de leur capitalisation à un gradient élevé dans la tourbe, de transformer la qualité des eaux (acidité et absence de sels minéraux) qui sont nécessaires aux industries (lavage des laines, papier) et de rompre certains équilibres climatiques locaux.

Dans ce dernier cas, en effet, il faut admettre (Tinbergen, 1940) que le climat local d'une région de tourbières (températures extrêmes, basses moyennes de température, pluviosité importante) est produit par l'action de facteurs comme la conductivité et la chaleur spécifique caractéristiques du sol tourbeux, comme la nature de la couverture végétale typique (*Sphagnetum*) et la forte intensité d'évaporation de celle-ci. En Haute-Belgique, ce climat local des tourbières subit en outre l'influence de l'altitude. Mais il n'en reste pas moins vrai que les tourbières ne peuvent continuer à être des endroits de forte évaporation, avec perte considérable de chaleur latente, maintenant de basses moyennes de température et une pluviosité marquée, que dans la mesure où les association végétales typiques continuent à occuper un important pourcentage de la surface du sol. Le drainage a incontestablement provoqué la diminution de la surface couverte par le *Sphagnetum* (transformation en *Callunetum*, *Molinietum*, plantations de bois d'Epicea). Tinbergen en conclut que cette modification de la flore (au moins pour la régression vers le *Callunetum*) a pour conséquence de diminuer l'évaporation, entraînant ainsi une modification du climat local.

Cette dernière conséquence est, à mon avis, très importante car elle touche précisément à la valeur quantitative du capital hydrologique du plateau.

Toutes ces considérations m'imposent de recommander aussitôt que possible la suppression du drainage dans les fagnes vierges et le comblement des fossés dans les fagnes assainies mais non boisées.

(Station Scientifique du Mont Rigi, Université de Liége).

L'HABITAT ANTIQUE SUR LE PLATEAU DE LA BARAQUE MICHEL

par Mme BOUILLENNE-WALRAND et F. DARIMONT

La question de l'habitat préhistorique sur les emplacements de tourbières actuelles en Haute-Belgique a souvent préoccupé ceux qu'intéressent les Fagnes belges.

Avant la guerre déjà, le Comte de Limbourg-Stirum, possesseur de vastes propriétés dans le pays de la Baraque Fraiture, avait fait effectuer des fouilles systématiques dans des mares des Fagnes de Bihain et avait découvert des restes de pilotis enfoncés dans le sol ferme des mares.

A la suggestion de l'abbé Charles Dubois, le savant archéologue belge, et de M. Fagnoul de Botrange, nous avons entrepris dans les Fagnes de la Baraque Michel le relevé des groupes de « viviers » qui garnissent les pentes du haut-plateau. Ils y existent en grand nombre,

notamment sur la fagne dite Grande Fange (territoire de Jalhay) où l'on peut distinguer les remblais de plus de 60 viviers étagés en séries le long de la pente et dont les premiers se trouvent sous la ligne des sources qui furent repérées par les travaux de la Station scientifique du Mont Rigi.

Ils sont constitués, comme dans les Fagnes de Bihain, de remblais circulaires, ou à peu près, de dimensions variables (34 × 42 m, 60 × 40 m) dans lesquels on peut encore repérer deux ouvertures : à l'amont et à l'aval.

Le problème a été souvent posé de l'origine naturelle ou artificielle des viviers ; certains chercheurs, en effet, ont voulu y voir des sortes d'entonnoirs d'origine volcanique. Cette hypothèse est de plus en plus abandonnée aujourd'hui et il est extrêmement passionnant de chercher à savoir à quelle époque et par qui ont pu être érigés ces centaines de remparts de terre qui délimitaient sur le sol des Fagnes des cuvettes à fond imperméable.

Toutes sortes d'hypothèses furent émises : viviers à poissons, entreprises de lavage d'or, cités lacustres, remparts de fortifications.

Nous avons entrepris à la Station scientifique de l'Université de Liége au Mont Rigi, une étude systématique des viviers qui consiste à en dresser la carte, à en explorer un certain nombre et à faire l'étude des restes végétaux qui les remplissent.

Nous avons jusqu'à présent fouillé complètement deux viviers et incomplètement deux autres et le résultat des fouilles nous permet d'affirmer que l'intérieur des viviers a porté autrefois des constructions de bois établies sur pilotis. Il n'est pas possible en effet, de confondre les restes retrouvés avec les débris d'arbres que l'on retrouve à certains niveaux de la tourbe : ici les pilotis sont des troncs d'arbres ou de grosses branches enfoncés dans l'argile de base ; les extrémités fichées dans le sol ne sont pas taillées en pointes, elles portent toutes la marque du feu. *Aucun* pilotis ne porte de racines, ce qui exclut l'hypothèse émise par certains, d'arbres en place dans l'argile de base ; plusieurs pilotis sont des troncs retournés, dont les deux ou trois branches maîtresses arrachées près du tronc, forment à ceux-ci une large assise fortement encastrée dans l'argile ; nous avons dégagé de la fourche de ces branches des touffes de mousses épiphytes en place dont la détermination a été confiée à un spécialiste.

Sur ces pilotis, on retrouve par place un véritable plancher de troncs fendus longitudinalement et disposés les uns à côté des autres. Le plus bel ensemble a été mis à jour pendant les étés 1938-1939.

Le fond des viviers, au lieu d'être constitué par de la tourbe ordinaire, est formé d'une mince couche vaseuse à odeur de pourriture, surmontée d'une couche de végétaux jaunes-bruns (30-40 cm. d'épaisseur) très bien conservés et qui noircissent dès qu'ils arrivent à l'air.

Au-dessus, la tourbe constituée à partir de Sphaignes a monté et remplit complètement à l'heure actuelle les différents viviers.

Quel âge peut-on attribuer à ces viviers ?

L'analyse pollinique d'un des viviers (Vivier Fredericq) a montré

que la tourbe contient surtout le pollen d'*Alnus*, de la Chênaie (*Quercetum mixtum*).

Vers le sommet existe une couche de tourbe contenant une énorme quantité de pollen de *Corylus* (202%) (1).

A cause de cette couche à forte teneur en pollen de *Corylus*, nous avions conclu que la tourbe des viviers était d'époque boréale : en effet, pendant plusieurs années, la couche à *Corylus* a été considérée comme caractéristique de l'époque boréale.

Aujourd'hui, divers auteurs pensent que cette position doit être abandonnée. Mademoiselle B. Polak, l'éminente spécialiste de l'Université d'Amsterdam, classe la tourbe des viviers dans l'époque atlantique (« L'époque atlantique commence au point où *Alnus* et *Quercetum mixtum* sont plus abondants que *Pinus* »).

L'analyse des débris végétaux de la couche de base sera effectuée cette année.

Jusqu'à présent aucun objet n'a été découvert qui puisse déterminer la nature de l'industrie humaine qui a construit les viviers, mais la preuve est faite qu'ils ont abrité dans leur cercle de terre des constructions de bois, de facture extrêmement grossière et d'époque très ancienne. (*Station Scientifique de l'Université de Liége au Mont Rigi*).

(1) Pourcentage par rapport à la totalité des pollens d'arbres.

UN GROUPEMENT A « CIRSIUM PALUSTRE » ET « ANGELICA SILVESTRIS » SUR LE PLATEAU DES HAUTES-FAGNES

par Freddy DARIMONT,
Candidat en sciences biologiques (Université de Liége).

Sur le plateau de la Baraque Michel, en Belgique, à gauche et à droite de la route de Malmédy à Jalhay, sur le territoire de cette dernière commune, s'étend une grande fagne dénommée les « Trous Brouly ». C'est une de ces hautes tourbières acides que R. Bouillenne a décrites (1934, 1935, 1938), mais elle est très altérée par suite d'exploitations de tourbe. Celles-ci, très nombreuses et d'âges très divers, donnent à la Fagne un relief assez compliqué. Les exploitations les plus anciennes étaient de simples trous non drainés et la recolonisation par *Sphagnum* y est devenue très active. Par contre les exploitations récentes se font selon de larges tranches en arc de cercle et elles sont bien drainées. Il en résulte que la tourbe est enlevée sur de vastes espaces ; ceux-ci constituent dans la masse de la tourbière de larges dépressions.

L'eau qui suinte de la tourbe circule à l'air libre soit sur un sol de tourbe (lorsque l'exploitation n'a pas atteint le sous-sol), soit sur l'argile de base (lorsque celle-ci a été mise à nu). Cette eau rendue par la tranche des exploitations récentes provient, dans l'hydrologie générale du Haut-Plateau, de la pluie abondante tombée sur la surface de la tourbière et aussi de certaines sources situées en amont. Les drains qui assèchent la sole d'exploitation convergent vers certains points de la pente du terrain où nous trouvons une circulation d'eau assez abondante pendant la plus grande partie de l'année. Ces endroits peuvent être considérés comme les exutoires des eaux des tourbières qui sont comme on sait des tourbières de pentes. Le pH de ces eaux est assez bas, il a été mesuré fréquemment, 4,4 à 4,6 (Bouillenne 1934, Delarge, 1936). La végétation est très abondante, luxuriante même, sur le trajet d'écoulement des eaux qu'elle masque le plus souvent. Elle est d'un facies tout différent de celui de la Haute Tourbière environnante, de telle sorte qu'on peut suivre le parcours de l'eau assez aisément.

Il nous a paru intéressant de signaler cette végétation ; nous avons, en effet, eu l'occasion de l'observer en divers endroits des Hautes Fagnes, particulièrement à l'exutoire des tourbières. C'est cependant à l'aval des Trous Brouly qu'elle est le mieux représentée. Voici le relevé que nous en avons fait :

Angelica silvestris, *Cirsium palustre*, *Scabiosa succisa*, *Comarum palustre*, *Juncus conglomeratus*, *Juncus silvaticus*, *Menyantes trifoliata*, *Viola palustris*, *Epilobium palustre*, *Equisetum limosum*, *Carex vulgaris*, *Carex ampullacea*, *Galium hercynium*, *Molinia coerulea*.

Nous comptons étudier plus tard les conditions écologiques qui déterminent la localisation et le groupement de ces espèces. En effet, celles-ci se retrouvent ensemble dans d'autres régions ; elles sont localisées généralement de façon très particulière, sur les bords des tourbières de vallée par exemple ; elles ont déjà fait l'objet d'observations intéressantes, entre autres en Suède.

(*Station Scientifique du Mont Rigi, Université de Liége*).

VARIATION DU pH DES EAUX DES TOURBIÈRES DE LA BARAQUE MICHEL SOUS L'INFLUENCE DE LA PLUIE ET DE LA SÉCHERESSE

par L. DELARGE [1]

Docteur ès Sciences, Institut Botanique, Université de Liége

Des recherches entreprises à la Station Scientifique de l'Université de Liége au Mont Rigi (Hautes-Fagnes belges) nous ont montré que les alternances de temps pluvieux et de temps sec modifient considérablement le pH des eaux des tourbières. L'écart de pH peut être de 2 unités, pour l'eau prélevée exactement au même endroit.

Le pH des eaux de sources conserve cependant la même valeur, quelles que soient les conditions atmosphériques : pH 5,0, 5,1. De même l'eau imbibant les coussinets de *Sphagnum papillosum* garde toujours un pH de 3,9.

Partout ailleurs les pH varient fortement suivant que la fagne est détrempée ou sèche, dans une mesure qui dépend des particularités de chaque endroit. C'est ce qui résulte de plusieurs centaines de mesures, réalisées au cours d'une année entière (1937) en des lieux spécialement choisis et observés, par tous les temps, au moment de chaque série d'analyses.

---

[1] Tombé au champ d'honneur.

Par temps sec, il ne suinte plus d'eau à travers la tourbe ; de même l'eau de surface ne circule plus guère. Les fossés, dépressions, etc., où l'eau séjourne donnent un pH 4,6 de manière générale. R. Bouillenne (1934) avait déjà remarqué cette valeur fréquente. Mais il y a de nombreux endroits dont le pH est intermédiaire entre le pH 3,9 du *Sphagnetum* et 4,6. Seule l'eau des sources situées en amont des tourbières (R. Bouillenne), continue à parcourir la profondeur de la couche tourbeuse en suivant des canalisations naturelles et apparaît en aval où elle s'écoule sur le lit des ruisseaux ; elle présente progressivement les pH 5,0, 5,3, 5,6, 6,0, 6,3, par suite de son séjour sur l'argile.

En périodes de pluies abondantes ou de dégel (neige fondante), les eaux ont un pH de 4,0 à 4,3 uniformément dans toute la fagne.

C'est le passage des eaux météoriques à travers le *Sphagnetum* qui doit abaisser, selon nous, à ce point le pH des eaux.

Il nous paraît que l'on peut tirer de ces observations sur les fluctuations des valeurs des pH des eaux des Fagnes de la Baraque Michel examinées successivement aux mêmes endroits, une conclusion importante, à savoir que le pH peu élevé (4,0) *généralisé en temps de pluie dans les eaux des tourbières doit provenir surtout de l'influence du complexe biologique que constitue le* Sphagnetum.

(Station Scientifique du Mont Rigi, Université de Liége).

NOTE SUR LE « SPHAGNUM » DU PLATEAU DE LA BARAQUE MICHEL

par M. FOUARGE,

Professeur à l'Athénée de Liége

Dans une note publiée en 1936 (1), j'ai montré que *Sphagnum div. sp.* était le colonisateur primordial et prépondérant des fonds d'exploitation des tourbières de la Baraque Michel.

Malgré les drainages excessifs et les plantations d'épicéas qui ont modifié profondément la végétation naturelle d'une partie de nos Fagnes, le *Sphagnetum* a conservé une importance considérable. Cette importance, il la doit à sa fréquence et à son étendue, mais surtout aux problèmes écologiques, géographiques, voire économiques qu'il conditionne.

Les tourbières de la Baraque Michel sont acides et à base de Sphaignes. Le *Molinietum* que l'on rencontre si répandu sur le plateau représente une association accidentelle résultant de l'assèchement.

Plus particulièrement : 1° le relief du sol par formation de tourbe est essentiellement tributaire de la montée du *Sphagnetum* qui comble les excavations et nivelle sans arrêt ;

2° ainsi que l'a fait ressortir le professeur Bouillenne (2), l'acidification des eaux de ruissellement et des tourbières, l'apparition des sources, l'hydrographie du plateau et d'une partie du pays sont autant de problèmes étroitement dépendants de la présence de *Sphagnum*.

Bref, le *Sphagnetum* est un facteur de premier ordre partout où dans nos Fagnes ont persisté des vestiges du tapis végétal naturel. A ce titre, il mérite une étude approfondie qui n'a pas encore été faite.

En vue de constituer une introduction à un tel travail, qui ne manquera pas d'être long et ardu, je me suis efforcé d'entamer le relevé systématique des différentes espèces du genre *Sphagnum* que l'on rencontre sur le plateau.

Les ouvrages spéciaux que j'utilise dans ce but sont :

1° Die Süsswasserflora Deutschlands, etc. de Warnstorf. Collection A. Pascher 1914.

2° Flore des Sphaignes de France. Dismier, dans *Archives de Botanique*, t. I, 1927.

3° *Sphagnum* en *Sphagnetum*, Dr Beijerinck, Amsterdam, 1934.

Tandis que Warnstorf reconnaît 48 espèces, Dismier en admet 36 et Beijerinck 38. C'est dire que l'accord ne sera pas toujours facile à réaliser.

Jusqu'à présent et sauf certaines révisions qui s'imposent, j'ai recueilli et déterminé 25 espèces de Sphaignes que je cite d'après Warnstorf, auquel les deux auteurs également cités ci-dessus en réfèrent fréquemment.

---

(1) *Bull. de la Société Roy. des Sc. de Liége*, nos 2 et 3-4, 1936.

(2) *Bull. de la Société Roy. de Bot. de Belgique*, t. XVIII, fasc. 1, 1935.

richesse en eau des stations. J'ai, en effet, rencontré certains cas de continuité étonnants, à tel point que les formes intermédiaires présentent des analogies assez marquées avec l'une et l'autre espèces.

La phytosociologie et l'écologie des espèces constituent à elles seules un labeur de très longue haleine. Une grosse difficulté surgit dès l'abord : une espèce de *Sphagnum* ne se reconnaît généralement pas de visu comme il en est pour les plantes supérieures. Le microscope est indispensable. De plus, des types différents sont fréquemment confluents ou entremêlés et demandent une attention très serrée pour être distingués sur le terrain.

Pour conclure, je me permettrai la citation suivante tirée de Beijerinck : « La fagne est une archive bourrée de documentation ».

En particulier : « *Sphagnum* a une signification particulière en » biologie. Non seulement il constitue un matériel expérimental de » premier ordre pour les recherches physiologiques, mais il est l'habi- » tat de tout un groupe particulier d'organismes que l'on ne trouve » guère ailleurs parce qu'ils semblent liés à des circonstances excep- » tionnelles.

» La destruction du *Sphagnetum* entraînerait la suppression d'objec- » tifs d'étude pour la science. »

En terminant, j'exprime ma reconnaissance au professeur Bouillenne, non seulement parce qu'il m'accorde une large hospitalité à la station du Mont Rigi et qu'il m'aide de ses indications et de ses conseils, mais aussi parce qu'il s'est fait au nom de la science, le défenseur inlassable de la fagne *Réserve Nationale* sans souci des embûches qui lui sont dressées à chaque pas.

(*Station Scientifique du Mont Rigi, Université de Liége*).

COUP D'ŒIL ÉCOLOGIQUE ET PHYTOSOCIOLOGIQUE SUR LA POINTE EXTRÊME DU CONDROZ, SITUÉE AUX PORTES DE LIÉGE

par Arthur MARÉCHAL,

Directeur honoraire de l'Enseignement Primaire,

La région que nous avons examinée constitue un véritable éperon mouvementeux et boisé culminant à 247 mètres environ dans sa partie la plus élevée et resserré entre la Meuse à l'Ouest et l'Ourthe à l'Est.

Le versant Est, très abrupt, a une déclivité variant entre 30 et 75°. Du côté mosan, la pente est plus faible, entre 30 et 45°. Le sommet offre l aspect d'un plateau avec de larges éclaircies de prairies et de terres cultivées.

Des ruisseaux et ruisselets découlent des deux versants prenant leur source, les uns au plateau, certains aux flancs de la colline.

La constitution géologique du sous-sol est assez compliquée. On y rencontre, en effet, une zone de terrain houiller avec grès et schistes noirs, une assise de calcaire carbonifère (Tournaisien et Viséen à bancs redressés), schistes et psammites condruziens (sous-étage du Famennien). La majeure partie du versant mosan est constituée par du Coblencien. Le versant de l'Ourthe présente successivement des schistes, grès et psammites du Burnotien et des affleurements de calcaires dévonien et carbonifère.

Ce sous-sol est recouvert d'un manteau plus ou moins épais d'un limon sablo-argileux ou argilo-sablonneux, profondément remanié dans les parties cultivées et boisées où, dans ce dernier cas, la couche de terre humique a une épaisseur variant entre 10 à 20 cm.

Sur le plateau, la couche de limon est épaisse (tertiaire) avec de vastes poches de sable oligocène (exploitation de Boncelles).

Certaines parties du versant Est sont nettement fangeuses et propices à l'existence des plantes hygrophiles et acidiphiles. Dans les ravins on trouve sur les différents paliers des ruisseaux torrentueux, une terre très fine, vaseuse, argilo-siliceuse, noirâtre dans les sous-bois, par suite de l'humification des détritus végétaux (présence de *Carex strigosa* Hurts.

En résumé donc, sauf quelques îlots calcaires en affleurements,

l'élément siliceux prédomine dans notre secteur et la végétation spontanée et sylvatique revêt un caractère franchement silicicole. C'est en petit, le faciès végétal de l'Ardenne.

Les précipitations atmosphériques sont en rapport avec celles de la région ; les brouillards froids sont assez fréquents dans la vallée de l'Ourthe fortement encaissée et où la luminosité diminue fortement dans les ravins dès l'après-midi.

L'air du versant mosan, intoxiqué par les gaz nocifs provenant des nombreuses usines de la vallée, influence d'une manière frappante la croissance de la végétation : taillis rabougris et à éléments arbustifs espacés par endroits, mousses peu abondantes, lichens limités parfois à des débuts prothalliens, etc. Cette association sylvatique contraste singulièrement avec celle du versant opposé (Ourthe), où la vigueur végétative a conservé toute son ampleur.

La moyenne de la capacité en eau du substratum des bois sur schistes est, pour notre région, d'après M. Nihoul de 37% ; la capacité en gaz, 18% et le pH est 5,2.

Résumant nos observations écologiques et phytosociologiques relatives à l'aire envisagée nous dirons :

1) la flore spontanée de la région parcourue est en majeure partie silicicole avec, ça et là, quelques espèces calcicoles et aérophiles croissant sur des affleurements du calcaire ;

2) l'ensemble présente une végétation remaniée, dégradée et ce depuis un très grand nombre d'années ; il est difficile d'y découvrir des associations primitives d'une valeur égale à celles des Hautes-Fagnes et où la nature nous les présente encore à l'état plus ou moins vierge ;

3) certaines parties du territoire offrent, au point de vue du groupement des éléments phytiques, une complexité déconcertante en raison d'un enchevêtrement, d'une interpénétration des constituants de plusieurs associations, le plus souvent fragmentaires.

Comme le fait remarquer M. Reynaud-Beauverie dans son travail : *Le Milieu et la Vie en commun des Plantes* : « souvent le patronyme de l'association est abondant ; il en est parfois de même pour la dominante du groupement, mais les composantes constantes manquent par suite de la sécheresse du sol et de l'absence des autres éléments écologiques, empêchant ainsi les conditions vitales de certains éléments constituants de l'association ».

C'est ainsi que dans ce coin du Condroz nous avons de grandes étendues de *Callunetum*, de *Vaccinietum*, de *Nardetum* et de *Molinietum*, associations représentées en général par le type nominal du groupe.

4) ce sont les groupements sylvatiques, quoique dégradés, qui nous fournissent les notions les plus nettes au point de vue phytosociologique. Nous avons observé la présence :

a) du *Querceto-betuletum* ou forêt chêne-bouleau, association la plus représentative et la plus commune dans le Condroz ;

b) du *Quercion roboris* : chênaie acidiphile (*Quercus robur* et *Qusessilis*) ;

c) de l'*Alnetum* peu étendu, avec présence de *Carex élongata* L ;

d) du *Fagion* et du *Fagetum calcareum* ; ces dernières associations en voie de disparition par suite de l'abatage systématique.

5) la végétation bryologique est relativement pauvre (excepté pour les hépatiques dans les sous-bois), principalement sur le versant mosan (impureté de l'air). Les Pleurocarpes sont assez mal représentées ;

6) encore plus pauvre est la strate lichénique surtout pour les espèces épiphytes ; beaucoup restent à l'état de prothalle atrophié.

(*Institut Botanique de l'Université de Liége*).

Ne compromettons pas l'équilibre des forces naturelles

Le sol, les réserves d'eau et la végétation

par Ray. BOUILLENNE,
Professeur à l'Université de Liége.

SOMMAIRE :

I. — Introduction.

II. — Ruptures d'équilibre dans les Hautes-Fagnes.
Influence du drainage sur la végétation. — Influence du drainage sur la tourbe. — Importance de la diminution des réserves aqueuses.

III. — Ruptures d'équilibre dans le monde.
Aux Etats-Unis. — En Asie. — En Afrique. — En Amériques centrale et méridionale.

IV. — Influence du défrichement.
Régression de la végétation naturelle. — Sénilité du sol. — Transformation du climat.

V. — Conclusions.

I. — INTRODUCTION

Comme beaucoup de mes semblables, j'ai été souvent impressionné par d'admirables monuments, où architectes et artistes ont réussi à fixer le génie de leur siècle, j'ai aussi été ému par de puissantes réalisations techniques, où les ingénieurs ont témoigné de leur science et de leur audace en parvenant, par exemple, à percer des montagnes, à édifier des barrages comme le Boulder Dam que le fleuve Colorado a mis plus de trois ans à remplir, à jeter des ponts-suspendus par dessus des bras de mer, à détourner le cours des fleuves, etc...

Même devant des travaux de moindre envergure, j'ai éprouvé également cette sensation particulière faite à la fois, dans bien des cas, de plaisir esthétique, de satisfaction devant les progrès réalisés et d'une sorte de fierté humaine à constater combien les forces du monde extérieur, qui avaient tant inquiété nos aïeux, peuvent être exploitées, domestiquées de plus en plus à notre profit.

Qui dira jamais combien les forces de la nature ont été impitoyables ?

(Photo J. Moureau).

Fig. 1. — Forêt de Bouleaux dans la vallée de la Helle. Cette forêt, clairsemée sur une tourbe épaisse, est peut-être la seule qui, en Belgique, ait gardé un faciès primitif.

Nos ancêtres, dispersés par petits groupes sur le vaste monde, ignoraient presque tout des lois de la matière ; ils étaient impuissants à lutter contre les éléments et menacés autant par la brutalité de la vie sauvage que par les ravages des maladies, et des épidémies ; mais, grâce à la constance de leurs efforts millénaires, ils ont découvert les moyens de se défendre, ils ont précisé leurs connaissances ; ils ont enfin dominé la nature. Les populations agrandies ont occupé de plus en plus largement les espaces livrés

naguère aux forces hostiles et primitives. C'est ainsi qu'ils ont conquis pour les générations présentes un sort enviable, si on le compare à celui de nos prédécesseurs sur lesquels s'apesantissaient les pires fléaux.

Et si nous pouvions faire abstraction de l'étrange conduite des hommes qui se lancent les uns contre les autres en utilisant, à des

(Photo Osalbe, Sedan).

Fig. 2. — Forêt de feuillus mélangés, sur les pentes de la vallée de la Semois, entre Herbeumont et Sainte-Cécile. (Cliché obligeamment prêté par la Revue « Reconstruction »).

fins meurtrières, les plus belles acquisitions de la science et de la technique, nous pourrions nous écrier plein d'orgueil : « l'avenir, l'avenir est à nous ».

Pourtant ce cri de triomphe sur les forces naturelles, cri qu'il serait légitime de pousser aux heures de paix, éveillerait dans le cœur des naturalistes une résonnance d'inquiétude, parce que les moyens d'action dont nous disposons aujourd'hui permettraient une telle exploitation, une telle transformation de ce qui reste de la nature que des ruptures d'équilibre se produiraient comme il s'en est manifesté déjà, entraînant des perturbations irréversibles dont nous ne serions plus les maîtres et qui pourraient être désastreuses.

C'est ce point de vue que je voudrais développer ici brièvement. Il est basé sur un ensemble d'observations familières à ceux qui

(Photo J. Moureau).

Fig. 3. — Cultures d'arbres résineux, *Picea excelsa*, établies en rangs serrés, en vue de rendements économiques, imposant, par leur ombre opaque, la mort aux végétations indigènes. On voit ici des Bouleaux, des Aulnes et des Chênes qui ont longtemps résisté à la montée des Epicéas et qui sont morts épuisés par le manque de lumière et d'aération.

étudient les êtres vivants, hommes, bêtes et plantes et leurs rapports avec le milieu dans lequel ils sont appelés à vivre.

Il pourrait paraître pessimiste à ceux qui, plongés dans leurs soucis quotidiens, ne peuvent faire abstraction du monde artificiel créé autour de nous et auquel nous nous habituons.

(Photo L. Vergauwen).

Fig. 4. — La Semois, en Gaume, garde son prestigieux aspect naturel, qui émeut tous ceux qui n'ont pas perdu le « sentiment de la Nature » : autant parmi les hommes de sciences que parmi les touristes. (Cliché Commissariat Général du Tourisme).

Mais cependant ce point de vue ne s'écarte pas d'une stricte objectivité et comporte des constatations historiques, biologiques et écologiques ; il montre certains faits sous un jour alarmant.

* * *

Que sont devenus aujourd'hui certains de ces éléments naturels primitifs dont la puissance entravait les activités humaines ? Comme je l'ai dit, dans bien des cas, ils ont été maîtrisés... Et,

d'une manière générale, l'extension des territoires habités a restreint considérablement les espaces où ils peuvent encore se réaliser librement.

En Belgique, les forêts anciennes venues du fond des âges ont subi une exploitation progressive, elles ont disparu à peu près partout (fig. 1). Les forêts d'aujourd'hui sont des bois reconstitués artificiellement grâce à la vigilance et à la technique admirables des services des Eaux et Forêts de notre pays (fig. 2). Il n'en reste pas moins vrai, qu'elles ne sont, le plus souvent que des cultures d'arbres établies en vue de rendements économiques (fig. 3).

Les rivières n'ont plus que rarement leur aspect de nature aux berges fleuries, aux eaux normalement poissonneuses et chantantes (fig. 4). La plupart sont aménagées et rectifiées entre des murs ; elles sont polluées comme la Vesdre ; elles sont asséchées comme l'Amblève.

La flore indigène n'existe plus que refoulée aux bords des chemins, le long des haies, en lisière des bois, pour faire place (très légitimement d'ailleurs) aux champs cultivés et aux prairies. La grande faune n'est plus qu'une faune amoindrie, réduite à quelques espèces entretenues pour la chasse.

Dans ces dernières années, les modifications ainsi apportées à l'état de nature se sont précipitées, à un rythme extrêmement rapide et nous en sommes arrivés au moment décisif dans les rapports entre la population et le milieu où elle vit : le moment où il n'y a presque plus de sol vierge et où les dernières zones intactes vont être mises en exploitation.

Il en est d'ailleurs ainsi dans la plupart des lieux civilisés et ce serait une erreur de croire que les pays exotiques sont indemnes des transformations considérables dues à l'action séculaire des indigènes et aux établissements des blancs. Nous sommes à même d'affirmer d'après les observations scientifiques récentes que les entreprises humaines provoquent sous les tropiques la dégradation des complexes naturels plus rapidement et plus largement que dans les climats tempérés.

Les naturalistes dont le programme et le devoir est d'étudier les éléments de la nature, n'en trouvent plus que des vestiges. Dans notre pays ils ne peuvent guère se les représenter qu'en opérant une sorte de reconstruction analogue à celle que réalise un archéologue d'après les plans de murs ruinés.

La plupart d'entre nous n'ont pas aperçu que les équilibres naturels étaient profondément altérés et que sous le couvert de

paysages même d'aspect intact, dans beaucoup d'endroits du monde, la partie s'est jouée déjà. Les éléments de la nature sont comme le tronc pourri d'un bouleau dont il ne reste plus superficiellement que l'écorce blanche.

Cette affirmation demande à être étayée par des faits précis. Qu'il me soit permis de donner plusieurs exemples.

Je commencerai par un exemple pris dans ce pays. J'ai eu en effet l'occasion d'y approfondir personnellement certains problèmes biogéographiques. Je m'attacherai à la région des Hautes-Fagnes de la Baraque Michel.

II. — RUPTURES D'EQUILIBRE DANS LES HAUTES-FAGNES

A première vue, la région des Hautes-Fagnes est un vaste territoire presque inhabité qui paraissait avoir été épargné jusqu'aujourd'hui.

(Photo Jarbinet).

Fig. 5. — Tapis végétal d'une tourbière typique, montrant une large association (que d'ailleurs on ne peut trouver à l'heure actuelle dans cet état homogène) de *Eriophorum* div. sp. (Linaigrette) dont les houppes blanches de fruits pelucheux sont bien connues.

Depuis l'époque déjà lointaine où Léon Fredericq la parcourait attirant l'attention sur certaines particularités de sa faune et de sa flore glaciaires, de nombreux biologistes, géographes et géologues l'ont étudiée grâce aux facilités offertes par la Station scientifique dépendant du Patrimoine de l'Université de Liége, établie depuis 1924 au Mont Rigi. Les caractéristiques de cette région sont apparues comme étant liées à l'existence de tourbières. Celles-ci sont couvertes d'associations végétales typiques comparables à celles des tourbières nordiques (Bouillenne ([1], [2], [4], [10]), Schwickerath ([5]) (fig. 5).

Ce qui a le plus frappé les observateurs au cours de ces 15 dernières années est la dessiccation étonamment rapide des tourbières et des fagnes. On a constaté en outre l'asséchement en été des sources et des ruisseaux qui de mémoire d'homme n'avaient jamais tari, l'altération du tapis végétal qui disparaît étouffé par une Graminée formant des sortes de prairies pauvres et inutilisables à hautes mottes (*Molinia Coerulea*) et la modification en profondeur de la structure physique de la tourbe colloïdale qui devient pulvérulente et ne parvient plus à se réimbiber normalement au retour de la pluie.

La disparition de la végétation autocntone des tourbières entraîne la diminution de la faune, entre autres du gibier et des oiseaux qui s'en nourrissaient. Les mottes de *Molinia*, nouvelles venues, favorisent la pullulation de rongeurs et partant des rapaces, qui à leur tour, menacent de destruction la faune et le jeune gibier.

En 1939, la région tout entière était en pleine dégradation, à tel point qu'au Congrès de l'A. F. A. S. il me fut presque impossible de montrer aux botanistes et biogéographes étrangers la végétation authentique d'une tourbière normale.

Si le sort de la faune, de la flore et des tourbières qui émeut les naturalistes parce qu'ils perdent un champ d'études extrêmement intéressant peut laisser indifférente la population du pays, il n'en reste pas moins vrai que les perturbations ne s'arrêtent pas là. La mort des tourbières a des répercussions sur les qualités spéciales des eaux qui s'en écoulent et qui se rassemblent dans les cours d'eau. Ces qualités sont telles que d'une part, grâce à leur pauvreté en substances salines, elles conviennent médicalement, comme les eaux de Spa, au lavage du tube digestif et d'autre part, grâce à leur acidité, elles sont indispensables aux industries de la laine et du papier qui sont installées pour cette raison sur les bords de la Vesdre, de la Helle, de la Warche et pour lesquelles en partie le barrage de la Gileppe a été construit.

La quantité d'eau disponible a fortement diminué. Partout on se plaint de l'asséchement des sources qu'on utilisait depuis le Moyen-Age, aussi bien à Malmédy qu'à Sourbrodt. Qui ne sait la situation difficile de la ville de Spa à ce point de vue ? Le rapport présenté récemment par le Syndicat d'initiative de Francorchamp est bien intéressant sur la question des sources sortant des fagnes de Bérinsenne.

La dégradation des tourbières entraine aussi des modifications non négligeables dans le climat. On sait que dans une même région, le climat local des tourbières se distingue généralement du climat des terrains non tourbeux environnants par ses grands extrêmes dans la température de l'air et par de basses températures moyennes (Karsten, 1911 ([7]); Geiger, 1927 ([8]); Firbas, 1931 ([9]). Ces températures moyennes relativement basses sont dues, en partie tout au moins, à l'évaporation qui se réalise au-dessus des tapis de Mousse (*Sphagnum*) largement imbibés d'eau qui couvrent la surface des tourbières vivantes.

En effet, l'évaporation provoque dans le sol une perte considérable de « chaleur latente ». Plus l'évaporation est grande, plus les maxima diurnaux sont bas, plus la réserve de calories pour l'émission nocturne est petite et par conséquent plus les minima sont bas. Les précipitations atmosphériques et l'alimentation en eaux, tant des sources que des nappes phréatiques, dépendent en grande partie de ces conditions et cela n'est pas sans importance dans une région où les villes (Spa entre autres) et les villages n'ont pas d'eau, si ce n'est celle des nappes phréatiques locales.

En ce qui concerne la valeur de l'évaporation des tourbières, nous ne disposons pas encore de nombreuses mesures. Cependant, celles que Tinbergen ([11]) a réalisées au cours d'un travail important fait à la Station scientifique du Mont Rigi en 1938 dans la Fagne Wallonne sont significatives. Les tapis non altérés de *Sphagnum papillosum* ont une évaporation qui, après correction par rapport au climat de la plaine, est d'un ordre de grandeur légèrement supérieur à celui des végétations herbacées des prairies qui sont précisément celles que l'on a reconnues comme évaporant le plus.

Toute rupture d'équilibre, qui, dans une tourbière, provoque la diminution des surfaces couvertes de *Sphagnum*, a pour conséquence de diminuer en cet endroit l'excédent caractéristique de forte évaporation et partant de modifier les conditions climatiques du lieu. Je me suis expliqué ailleurs ([1]) sur cette question. Les valeurs pluviométriques constatées récemment ne corres-

pondent pas à celles d'autrefois pour la raison, me semble-t-il, d'une sensible modification du climat.

(Photo R. Bouillenne).

Fig. 6. — Fossé de drainage établi en vue d'assainir le terrain où sont repiqués les plants de *Picea excelsa*. Ces fossés bordent les deux côtés de tous les coupe-feux ; ils sont innombrables ; au début ils n'ont pas plus de 0,50 m de profondeur ; ils deviennent bientôt des ravins, dès que la pente s'accentue.

Quelle est la cause principale, sinon la cause unique de cette rupture d'équilibre aboutissant à l'asséchement des fagnes, au tarissement des sources, à la destruction des caractéristiques biogéographiques et à la transformation du climat du plateau de la Baraque Michel ?

Il est permis d'affirmer aujourd'hui, après 15 ans d'études et d'observations, que cette cause réside dans l'assainissement progressif de la région tourbeuse en vue de la plantation industrielle du Sapin, *Picea excelsa*, arbre qui exige un sol drainé (fig. 6) Cette intervention humaine a eu comme but un rendement économique appréciable. De plus, elle était légitime. Après plus de 50 années de drainage intensif et extensif le programme a été réalisé. La surface de la plupart des tourbières est aujourd'hui découpée par un multiple réseau de fossés.

Mais ce réseau a dépassé aujourd'hui le rôle qui lui était assigné au début : installer des plantations de Conifères rentables. En effet, le drain passant sur une tourbière a deux actions : l'une sur le tapis végétal superficiel, l'autre sur la tourbe.

Influence du drainage sur la végétation

Le drain entame la végétation épaisse du *Sphagnetum* et du *Callunetum* (*) qui est lui-même toujours implanté sur coussins de mousses. Nous savons que ce tapis ininterrompu tient en suspension, par capillarité, une étonnante quantité d'eau qui flue très lentement de feuilles microscopiques en feuilles selon la pente.

Il constitue en effet une sorte de *nappe aquifère superficielle* au-dessus de la nappe aquifère de la tourbe ou du sol, nappe aquifère vivante, transpirante, qui refroidit l'atmosphère localement, par son intense évaporation à tel point qu'on s'en aperçoit en arrivant au-dessus d'un *Sphagnetum*. L'épaisseur moyenne de ce tapis végétal est de 0,15 à 0,25 m.

La seule fagne du plateau de la Baraque Michel qui n'ait pas encore été drainée complètement et dans laquelle nous avons découvert (1931) ([10]) l'association à *Empetrum nigrum*, (unique en Belgique), nous a révélé lors d'une fonte brusque de neige (Noël 1936) quelle quantité d'eau peut ainsi être retenue en équilibre ; il ne fut pas possible de la traverser tandis que le même jour, les fagnes voisines entrecoupées de fossés, étaient parcourues presqu'à pied sec, mais prenaient des aspects d'inondation au carrefour des grands drains.

Dès qu'une solution de continuité est pratiquée dans le tapis superficiel des tourbières, le niveau de l'eau s'abaisse aussitôt. La végétation couvrant les flancs des fossés fonctionne comme une mèche qui parviendrait à vider une assiette remplie d'eau. On voit, après les pluies, des filets d'eau couler le long des *Sphagnum* pendant dans les rigoles (fig. 7). La perte d'eau que le fossé provoque se transmet au loin dans l'épaisseur du tapis végétal qui peut ainsi en concurrence avec sa transpiration se vider beaucoup plus rapidement et complètement, comme on le constate quand les coussins de mousse deviennent blanchâtres. Les fossés, même anciens et partiellement comblés de végétation, gardent encore en Fagne, quoi qu'on en pense généralement, une grande activité.

Dans les conditions normales, sur la pente des tourbières, cette nappe aquifère se vide graduellement et lentement, de soi-même,

(*) On désigne ainsi les associations végétales dont la plante dominante est soit *Sphagnum div. sp.*, soit *Calluna vulgaris* (la Bruyère commune).

(Photo R. Bouillenne).

Fig. 7. — Fossé de drainage coupant la végétation d'une tourbière. Les flancs du drain se recouvrent de Mousses diverses qui fonctionnent comme une mèche et vident la nappe d'eau superficielle retenue dans la végétation.

la grande part au profit des ruisseaux (une certaine portion est évidemment perdue par l'évaporation). Il ne me paraît pas raisonnable d'assimiler (on l'a fait en Belgique, Boudru ([6])) l'épaisseur vivante de la végétation des tourbières à une surface nue comme celle des steppes du Middle West américain (la prairie) où de larges espaces de sol nu séparent des plantes basses et clairsemées. Les valeurs données par les observations de certaines Stations expérimentales américaines ne peuvent en aucun cas être attribuées à ce qui se passe dans les fagnes.

Le drainage épuise donc dans un temps très court cette réserve aquifère. Ce serait une illusion de croire que le drain en fagne peut enrichir un barrage. Il n'amènera jamais plus d'eau qu'il n'y en a dans la réserve, et, en dernière analyse, qu'il n'en est tombé sous forme de pluies dans le bassin hydrographique considéré.

La pratique du drainage est inutile puisqu'elle remplace par un autre, l'excellent magasin d'eau que constitue le tapis végétal lui-même lorsqu'il est intact. De plus, elle est préjudiciable à la stabilité des équilibres écologiques de la région. Elle a pour résultat de supprimer à jamais la possibilité de reconstituer cette réserve d'eau si utile : à cause des drains qui continuent à fonctionner ; à cause des répercussions que la présence de ceux-ci provoque (apparition du *Molinietum*, altération des propriétés physico-chimiques de la tourbe sous-jacente, voir plus loin) ; à cause des changements du climat local.

On ne dira jamais assez quelle perturbation subit le régime normal des eaux, dès que le tapis végétal d'une tourbière de pente est entamé ! Un des cas les plus évidents d'altération est celui de la Soor, que la drainage a rendue torrentielle et dont les tourbières d'amont sont actuellement ravinées de tranchées impressionnantes.

Influence du drainage sur la tourbe

Le drain qui passe sur la tourbière intéresse la tourbe elle-même et pose un autre problème.

(Photo R. Bouillenne).

Fig. 8. — Fossé de drainage dans les fagnes du Ru de Polleur. Ce fossé a été nettoyé. Il atteint déjà la tourbe profonde. On voit la quantité considérable d'eau dont il saigne tout ce vaste territoire de tourbières.

Dès l'ouverture d'un fossé, on constate que la surface de la tourbière s'affaisse nettement et sur une grande distance. Le colloïde lache une quantité d'eau considérable, il se désimbibe et diminue de volume comme un gel de gélatine en voie de dessiccation. La sous-imbibition provoquée par le drain produit un appel d'eau qui épuise peu à peu la tourbière tout entière (fig. 8).

Les fossés recoupent en outre le réseau de circulation de la *nappe aquifère* qui circule dans l'épaisseur de la tourbe. Cette nappe se vide très rapidement, librement et non plus sous forme de suintements dans les fissures compliquées de la masse colloïdale. Ces fossés passent également sur certaines zones d'argile perméable, dites de « setch-champs », où elles recoupent des lignes de sources ; celles-ci, une fois ouvertes, laissent couler à flot les réserves d'eau qu'elles distribuaient aux tourbières de manière très lente, du fait que, généralement, un bouchon de végétation et de tourbe en encombre la sortie.

Il en résulte donc que les fossés de drainage ont pour effet de dessécher la masse de tourbe environnante, d'épuiser la nappe

Fig. 9. — Schéma représentant le résultat de l'ouverture d'un drain dans une tourbière : la nappe aquifère superficielle, tenue par la végétation, et la nappe aquifère profonde, circulant dans la tourbe s'épuisent ; le ravinement de toute la région se produit. On voit que le drain s'approfondit et entame le sous-sol.

aquifère qui circule dans son épaisseur par élargissement des voies, et de tarir les sources (fig. 9).

De plus, on constate que la tourbe en voie de dessiccation se transforme superficiellement, soit en une croûte, comme on peut le voir dans la tranche des tourbières exploitées, soit en une masse pulvérulente qui se désagrège facilement. Ces aspects sont dus à la transformation profonde que subit le complexe colloïdal tourbeux. Cette croûte est devenue incapable de se réimbiber normalement. D'une part, les particularités de ce nouveau substrat ne sont plus favorables à la végétation caractéristique qui en occupait précédemment la surface et *Molinietum* s'installe ; d'autre part, l'évacuation immédiate des eaux météoriques a un

(Photo R. Bouillenne).

Fig. 10. — Ce que devient un fossé de drainage créé en vue de la plantation d'Epicéa, en bordure du coupe-feu que l'on voit à droite. Originairement, il y a 4 ou 5 ans, ce fossé avait 0,50 m de profondeur, comme celui de la fig. 6. Il est devenu un ravin élargi, affouillé par les eaux et creusé jusqu'à 2 m sous la surface. (Examinez le personnage debout dans le fossé).

effet mécanique très considérable sur les parois des fossés eux-mêmes. Ceux-ci s'approfondissent et s'élargissent. Le sous-sol des tourbières est mis à nu. Il faut avoir vu le creusement extraordinaire réalisé par l'eau dans les vastes surfaces des tourbières et des setch-champs pour se rendre compte du ravinement qui en résulte. En vérité, en certains endroits, comme dans les fagnes de Sart et le setch-champ qui se trouve en amont des tourbières de la Statte, c'est en très peu d'années (à peine 5 ans) que ce phénomène a pris une extension impressionnante. On ne peut plus nommer fossés ces sortes de cañons (fig. 10).

De plus, si naguère les eaux de la Hoëgne étaient normalement de couleur sombre, même après les pluies, car elles provenaient des tourbières encore intactes ; aujourd'hui, depuis la campagne de boisement de la commune de Sart sur le territoire de la Vecquée, elles sont devenues argileuses.

De toutes ces considérations, on peut conclure que les drains établis sur les tourbières ont provoqué la vidange du double capital d'eau se trouvant, l'un en surface dans la végétation typique des tapis de *Sphagnum* des tourbières et l'autre en profondeur dans la tourbe elle-même. Ils ont provoqué un régime intermittent et torrentiel dans les ruisseaux et les rivières ; ils ont altéré les conditions biogéographiques naturelles sur de vastes étendues. Si ces conditions avaient pu se maintenir, elles eussent constitué une sorte de volant de sûreté contre les conséquences des ruptures d'équilibres introduites dans ce pays.

Importance de la diminution des réserves aqueuses

Pour apprécier la valeur de la perte du capital eau que sans le vouloir et le savoir au début on a provoquée par le drainage, voici quelques informations chiffrées.

D'abord rappelons-nous qu'en surface, la végétation d'une tourbière en équilibre, constituée, comme nous l'avons dit, de diverses espèces du *Sphagnum*, forme un tapis épais de 10 cm. de tiges et pousses vivantes et 10 cm. de tiges anciennes mortes. Ce tapis prend l'aspect de coussins disposés côte à côte laissant entre eux de petites dépressions. Les coussins sont fortement imprégnés d'eau, on peut les tordre comme une éponge ;les dépressions sont pleines d'eau après la pluie. Celle-ci ne peut s'écouler que lentement à cause de la végétation moussue environnante. Nous pouvons résumer comme suit les nombreuses mesures faites au laboratoire du Mont Rigi : chaque mètre carré de *Sphagnetum*

(0,20 cm. épaisseur, poids sec 5 kg) peut retenir 72 kg d'eau, rendre lentement 57 kg et les reprendre par la pluie (voir tableau I).

Tableau I

Eau retenue dans 1 m² de « Sphagnetum » vivant.

Epaisseur du tapis : 0,10 m
10.000 à 20.000 brins de Sphagnum div. sp. à petites feuilles.
Narthecium, Eriophorum.

	Poids total	Poids sec de mat. végét.	Poids d'eau retenu	100 gr. poids sec retiennent
	kg	kg	kg	kg/eau
Après pluie	54	2,08	51,92	2,49
Temps sec	33,89	2,08	31,81	1,53
Egout. plusieurs heures s. claies.....	29,89	2,08	27,81	1,33
Sphagnum séparés en brins, égouttés plusieurs heures s. claies	8,20	2,08	6,12	0,298

Eau retenue dans 1 m² de « Sphagnetum ».

Epaisseur du tapis : 0,20 m
Sphagnum vivants : 0,10 m
Sphagnum morts et tassés : 0,10 m épaisseur.

	Poids total	Poids sec de mat. végét.	Poids d'eau retenu	100 gr. poids sec retiennent
	kg	kg	kg	kg/eau
Temps sec, pesé sur place	77	5	72	1,440
égoutté	57	5	52	1,040
pressé un peu	50	5	45	0,900
Temps très sec Sphagn. blancs	19,23	5	14,23	0,285

Ce qui fait qu'un hectare peut absorber utilement et relacher 570 tonnes d'eau et que la Fagne Wallonne, qui a environ 8 kilomètres carrés, retient temporairement dans sa pellicule superficielle, 456.000 tonnes d'eau, correspondant à un canal de 4 m. de large, 2 m. de profondeur, 59 kilomètres de long.

Des observations plus précises ont été réalisées au laboratoire sur du *Sphagnum* vivant ou mort, pesé par petites quantités. Les chiffres confirment, dans leur ensemble, les résultats cités plus haut. Selon les espèces 100 gr. de *Sphagnum* vivant (poids sec) contiennent au total entre 2 kg 500 ou 2 kg 800 d'eau, après

Tableau II

égouttage sur papier filtre ; ils peuvent normalement perdre et reprendre entre 1 kg 160 et 1 kg 900 d'eau. La couche végétale sous-jacente tient plus d'eau que la couche superficielle. Un poids sec de 100 gr. retient 3 kg 500 d'eau.

Ensuite en profondeur, la capacité d'imbibition de la tourbe normale est étonnante.

Par 100 grammes de matière sèche, la tourbe peut contenir entre 1000 gr. et 1962 gr. d'eau. Les couches les plus favorables à ce sujet se trouvent vers 1 m de profondeur (voir tableau II).

Mais si, au lieu d'égoutter la tourbe et d'éliminer une grande partie de l'eau maintenue dans les pores par capillarité, on pèse la masse hydratée au maximum, au laboratoire, mesurant ainsi la valeur de l'imbibition totale et celle de la capillarité, on constate que 100 gr. de poids sec retiennent environ 6 kg d'eau.

L'exemple que je viens d'étudier un peu longuement fait entrevoir un fait assez imprévu : un boisement chose excellente en soi, qui pour se réaliser nécessite la destruction d'un ensemble de conditions naturelles, crée un grave et peut-être irréparable préjudice à toute une région. Les plantations de Conifères ne pourront jamais reconstituer les conditions favorables à une capitalisation de l'eau analogue à celles qui spontanément s'étaient établies dans le complexe des tourbières.

Les intentions de nos compatriotes étaient légitimes au sens où ils se placent généralement, c'est-à-dire qu'elles tendaient à l'assainissement d'un vaste territoire qui ne semblait servir à rien ni à personne. Mais, en somme, elles ont produit une rupture dans les équilibres biogéographiques des Hautes-Fagnes.

Ce sont précisément ces équilibres qu'il ne faut pas compromettre, même en vue de réaliser un programme qui paraît s'imposer avec autant de bons arguments que celui d'un boisement.

III. — RUPTURES D'EQUILIBRE DANS LE MONDE

En dehors de notre pays, les exemples sont nombreux de ces brusques conséquences qui suivent même les plus anodines altérations des équilibres naturels. Elles s'aggravent si l'homme est pris au dépourvu et ne s'organise pas rapidement pour les atténuer.

Les plus importantes, parce qu'elles conditionnent l'habitat humain sont les transformations des sols et de l'hydrologie des pays, par suite de l'extension des surfaces utilisées par l'agriculture ou l'industrie.

Cette action destructrice sévit depuis des temps immémoriaux. L'homme a toujours vécu de l'exploitation de la nature (forêts, gibier, cultures, mines) et les espaces ouverts pour ses besoins dans les terres vierges et souvent boisées se sont progressivement élargis.

C'est surtout l'agriculture qui est responsable des altérations les plus étendues, car les défrichements qu'elle a entrepris et qui se sont surajoutés ont entamé le domaine forestier mondial depuis plusieurs milliers d'années. La plupart des préhistoriens reporte à la fin du dernier glaciaire la naissance de la civilisation prénéolithique agricole. Il est important de noter tout de suite qu'en Europe, cette civilisation nous fut apportée, il y a huit ou dix mille ans, probablement de l'Asie Centrale et aussi de pays qui, s'ils sont occupés aujourd'hui par des déserts comme l'Arabie et le Sahara, recevaient autrefois encore beaucoup d'eau (Aug. Chevalier, 1942) ([12]).

Evidemment, l'extension des défrichements agricoles a été très lente. L'agriculture primitive a passé par des stades nombreux avant de devenir la forme de culture intensive qui existe aujourd'hui dans une grande partie de l'Europe, de l'Amérique, dans l'Asie et l'Extrême Orient. Au XVII[e] siècle, elle gardait dans ce pays une allure gallo-romaine. On se souviendra qu'il y a un siècle à peine nos paysans pratiquaient encore la jachère et l'écobuage qui n'est autre que le feu de brousse des indigènes d'Afrique. Mais la chimie, les études botaniques et les recherches agronomiques de toute nature ont donné aux cultures un brusque essort. Elles ont passé en peu de temps de la forme patriarcale à une forme en quelque sorte industrielle. Elles ont largement couvert beaucoup de points du monde, de Blé, de Betterave, de Maïs, de Café, de Thé, de Caoutchouc, etc... (fig. 11).

Vers 1850, en Europe, on a constaté que cet agrandissement extrême des surfaces cultivées n'allait pas sans contre-parties : abaissement du niveau des nappes aquifères, irrégularité dans le régime des rivières, disparition locale de la réserve de bois utilisable, altération par endroit de la fertilité des sols arables et l'on a touché du doigt de manière très sensible la présence d'une rupture dans les équilibres naturels anciens.

Emile de Laveleye ([13]), dans son essai sur l'Economie rurale de la Belgique, décrit le paysage caractéristique du Condroz en 1875, dans ces termes : « région uniforme, triste et froide dont les plateaux ne s'élèvent pas très haut, *mais presque complètement privés d'arbres*, ils reçoivent le souffle glacé des vents qui tombent de la Haute Ardenne et de l'Eifel ».

(Photo A. Schlechten).

Fig. 11. — Vastes cultures de Blé, dans l'Etat de Montana, aux Etats-Unis. (Dans le Nat. Géogr. Magazine).

Des mesures de protections sérieuses ont été imposées par les circonstances dans tous les pays surpeuplés, où la fin du 19e siècle a vu se créer d'urgence des Départements techniques d'utilité publique, chargés de restaurer les « Eaux et les Forêts ».

Dans les régions peu habitées ou dans les colonies, l'ampleur des perturbations fut beaucoup plus considérable. L'ignorance où l'on était, depuis toujours, des conséquences d'une longue occupation du sol et aussi l'impossibilité pour une population clairsemée de réagir peuvent expliquer que, dans certaines régions, l'altération des équilibres naturels ne subit aucun frein.

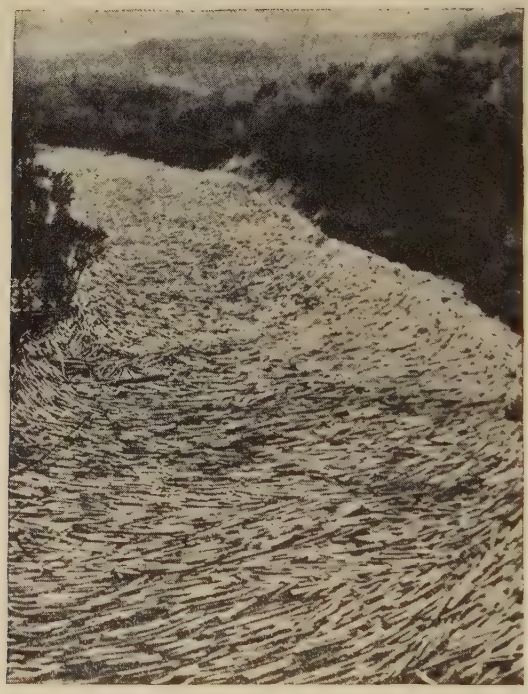
De nos jours d'ailleurs, ces conséquences ne sont pas toujours reconnues ou élucidées. Néanmoins, elles nous font faire la constatation impressionnante que certains phénomènes de régression sont irréparables, que les ressources terrestres sont limitées et que leur exploitation sans mesure déclanche des catastrophes.

Aux Etats-Unis

Voici un exemple que j'ai eu personnellement l'occasion d'observer en dehors de notre pays :

Le plus vaste et le plus compact magasin de forêts naturelles des U. S. A. couvrait, il y a quelques années encore, les régions

riveraines du Mississipi jusqu'à son embouchure en Louisiane. J'y ai vu en 1927, l'abattage industrialisé des forêts vierges de *Pinus palustris*, où des arbres de 200 ans étaient dirigés vers les scieries à la cadence de 8 hectares de forêt pour une seule scierie, par jour. Une quarantaine de scieries, qui ne s'arrêtaient ni jour ni nuit, transformaient, toutes à la même allure, ces forêts en planches et en pâte à papier. Nous savons, par ailleurs que le déboisement sévit un peu partout d'une manière aussi impressionnante (fig. 12).



(Cliché Fraser C°).

Fig. 12. — Au Canada, transport de bois par flottaison dans une rivière du Nouveau Brunswick. La quantité énorme de troncs abattus s'aperçoit ici, par suite d'un barrage accidentel dans l'écoulement de ces matériaux vers les scieries. (Ministère de l'Intérieur du Canada).

Il en résulte qu'en beaucoup d'endroits, le paysage est devenu une steppe inculte, pâturée par le bétail, noircie par les incendies d'herbes (fig. 13). La recolonisation naturelle en forêts y est

(Photo R. Bouillenne).

Fig. 13. — Une forêt vierge de *Pinus palustris* pluricentenaires, après abattage. Il ne reste, parmi les souches que les arbres trop faibles ou trop jeunes. Les « mauvaises herbes » qui poussent ensuite sont brûlées par des feux annuels et broutées par le bétail. Ces forêts ne peuvent plus se reconstituer.

(Photo Major Alb. W. Stevens).

Fig. 14. — La rivière Ohio s'étale à des kilomètres de ses rives, comme une mer intérieure ; les fermes, les clôtures, la route, les poteaux télégraphiques sont dans l'eau ; le bétail, et des automobiles sont abandonnés. (U. S. Army Air Corps).

impossible, car les herbivores broutent les jeunes plantules et le feu détruit celles qui leur ont échappé ; le sol s'est dégradé et ne joue plus son rôle régulateur dans la circulation des eaux. Ce déboisement intense a provoqué des ravinements excessifs, l'allure cataclysmique des diverses inondations du Mississipi et de ses affluents, comme celle de 1927 (fig. 14). On a entrepris, depuis environ 1925, une campagne de reboisement systématique, dont les premiers essais que j'ai vus à la station de Bogalusa, étaient très coûteux et difficiles.

(Photo Rev. William L. Earl).

Fig. 15. — Aspect de la prairie dans le Colorado. On voit ici qu'elle a déjà évolué vers la semi-aridité ; elle ne peut plus entretenir qu'une poignée d'indiens, installés dans une réserve, près du « Mesa Verde National Parc ». (Dans Nat. Geog. Magazine).

Au XVI^{e} siècle, dans le même continent, les forêts vierges de grande densité, qui couvraient l'ensemble des Etats-Unis et que les premiers Européens ont décrites, étaient déjà marquées dans une même région climatique, sans raison particulière édaphique ou orologique, par des taches de végétation de prairies. On les attribue aujourd'hui à l'action des tribus d'Indiens chasseurs (Lowdermilk, cité dans Van Steenis, 1936 ([14]) ; Walter, 1935) ([15] et [16]). Ces derniers favorisaient le rassemblement des bisons, cerfs, élans et autres gibiers herbivores dans des lieux de pâtures natu-

relles qu'ils aménageaient ou tout au moins qu'ils rajeunissaient en mettant le feu périodiquement aux herbes sèches. Ces feux, entamant les lisières des forêts, ont agrandi les surfaces de steppes qui, à la longue, se sont rejointes. L'immense « Prairie » s'est constituée dans ces circonstances (fig. 15).

Si au début, la moitié du territoire des Etats-Unis était encore forestière et le tiers sous forme de prairies, il n'y avait que 2,5% de désert. A l'heure actuelle, la superficie des déserts à considérablement augmenté, car la prairie se déssèche vite et s'altère. Elle passe insensiblement au faciès désertique avec un sol détruit, des masses de poussières mouvantes et stériles qu'on ne peut contrôler (entre autres dans le Kansas (voir fig. 16), en septembre 1937), une végétation réduite et les nappes aquifères menacées.

Fig. 16. — Dans le Kansas, en 1937, tracteur ensablé et champ ruiné par une tempête de poussière. Celle-ci a été enlevée par le vent aux régions voisines dont le sol en a été dégradé également. (Dans National Geog. Magazine).

Ces phénomènes prennent des allures de catastrophe. Ils ont obligé le Gouvernement fédéral a créer d'urgence le Département de « Soil Erosion » qui correspond, de nos jours, par ses débuts et son activité inquiète, à ce qui s'est passé lorsque, en Europe, 100 ans plus tôt, furent créés les Départements des « Eaux et Forêts ».

En Asie

La Chine me paraît offrir un des exemples les plus saisissants de la régression des sols arables et de la naissance des déserts. Cultivée depuis des temps innombrables, puisqu'en 3218 avant notre ère un législateur chinois enseignait déjà l'art de cultiver en des préceptes d'un caractère positif, les collines et plateaux de l'intérieur connaissaient une agriculture florissante. Celle-ci s'est maintenue pendant de nombreux siècles. Mais une époque est venue, qui ne vit plus que rizières, prairies, plantations de thé, cultures vivrières. Aucun arbre à l'horizon de ces vastes cam-

(Photo William J. Morden).

Fig. 17. — Le bûcheron est une personne importante du fait que l'on ne trouve presque pas de bois de chauffage, sauf dans les parties irriguées. Ce coolie déterre une souche de Genévrier. (Dans Nation. Geog. Magazine — Morden-Clark Asiatic Expedition).

pagnes..., à tel point que les habitants n'ont plus eu de bois de chauffage, si ce n'est très loin de leurs habitations et même, ce n'est pas avec la hache qu'ils en obtenaient, mais avec le pic, en déterrant les souches restées dans le sol et provenant des abattages de jadis (fig. 17).

Le pays est devenu aride et sec. Les champs ont dû être laissés en friche ; ils se sont couverts de la végétation des steppes (fig. 18).

(Photo Jos. F. Rock).

Fig. 18. — Dans les steppes herbeuses près de Koko Nor ; un groupe de nomades thibétains, avec leurs tentes et leur bétail. (Dans Nation. Geog. Magazine — Nat. Geog. Soc. Yünnan Expedition).

De plus, le sol s'est altéré ; les ouragans ont accumulé jusqu'à 30 mètres d'épaisseur de poussière sur les villages abandonnés. Les habitants se sont retirés de proche en proche dans les vallées où les inondations entretiennent la fertilité par des dépôts d'alluvions ; mais elles y souffrent des inconvénients d'une extrême surpopulation et d'une misère économique profonde (fig. 19).

Ce n'est pas erroné, à mon avis, de voir dans cette stérilisation des sols de la Chine par excès de défrichement et d'agriculture une des raisons fondamentales de la ruine et de la stagnation des peuples civilisés d'Extrême Orient.

(Photo Capt. Hans Koester).

Fig. 19. — Le déboisement des territoires immenses de la Chine du Nord, autrefois forestière, en vue d'obtenir du bois et des terres agricoles ont livré le sol aux forces destructrices. Cette contrée de poussière et de loess devient un laboratoire pour les études américaines de « Soil erosion ». La culture s'est rassemblée dans les vallées. (Dans Nat. Geog. Magazine).

(Photo Maynard O. Williams).

Fig. 20. — Le camp de l'expédition Citroën de la « Croisière Jaune », parmi les tours funéraires de l'antique Palmyre, qui cachaient les momies de défunts puissants, renommés et riches. (Dans Nat. Geog. Magazine).

Fig. 21. — « Babylone, autrefois un centre mondial de puissance et de gloire, est maintenant un tas de poussière et de murs écroulés ». Les voies du chemin de fer de Basra, visibles au premier plan, ne s'y arrêtent pas. (Dans Nation. Geog. Magazine — Brit. Roy. Air Force).

(Photo Maynard O. Williams).

Fig. 22. — En Anatolie centrale, il n'y a presque plus d'arbres. Un permis est exigé pour pouvoir couper la provision hivernale de bois de chauffage. Convoi de chars paysans revenant de la récolte annuelle de brindilles et de branches. (Dans Nation. Geog. Magazine).

Les documents rapportés par la Mission Citroën [17] et par tant d'autres expéditions américaines [18] ne sont pas discutables à ce sujet. Ils révèlent dans les déserts asiatiques et sur les plateaux du Thibet l'existence de temples, monuments, œuvres d'art, dont les uns, en ruine, sont abandonnés depuis des centaines d'années (fig. 20) et dont les autres, encore habités comme les lamaseries, continuent une vie sociale, fossilisée il est vrai, mais symptomatique d'une très ancienne et très grande prospérité.

Scientifiquement, il n'est pas possible d'imaginer que celle-ci ait pu s'établir jadis dans un milieu naturel aussi aride. Les nombreux dessins et bas reliefs représentant des arbres se chargent d'ailleurs de nous en informer.

(Photo Orient Press, par Z. Kluger).

Fig. 23. — Le Jourdan, entre le lac de Galilée et la Mer Morte, déroule ses méandres sur des terres fertiles et boisées. Mais le reste du pays est complètement devenu aride. (Dans Nation. Geog. Magazine).

Cette situation de la Chine n'est pas unique en Asie. La Mésopotamie nous offre l'exemple plus familier d'une région dont l'histoire splendide a hanté notre adolescence et qui n'est plus aujourd'hui qu'un brûlant désert où l'on retrouve sous des monticules de sable les rues de Babylone, de Ur et d'autres villes célèbres et riches (fig. 21). Qu'on ne me dise pas qu'au temps de Darius, les Mèdes et les Perses vivaient comme les Arabes ou les Turcs de nos jours, sans culture, sans jardin, sans eau, sans ombrage et sans bois de chauffage (fig. 22).

La belle et rare photo aérienne prise de la vallée du Jourdan (fig. 23) donne une excellente idée de ce qu'est devenue la verdoyante terre promise de Palestine.

En Afrique

S'il fallait, pour confirmer la situation que je viens de décrire pour l'Asie, multiplier les exemples dans d'autres continents, je n'aurais pas de peine à citer, pour l'Afrique, l'Ethiopie qui, aux temps heureux de la Reine de Saba, n'était pas une brousse immense (fig. 24) ; l'Egypte, qui n'habite plus que la vallée du Nil,

(Photo Harry V. Harlan).

Fig. 24. — Un paysan éthiopien charrue son champ de Millet avec un soc de bois. Le bétail broute dans la steppe d'alentour. (Dans Nation. Geog. Magazine).

tout comme la Chine s'accroche au long des vallées du fleuve bleu et du fleuve jaune ; la Cyrénaïque qui, sous la Rome impériale, était colonisée et exploitée avec profit sous le nom évocateur de Jardin de Bérénice ; le Sahara, où, de ci de là, sont gardés des souvenirs d'un passé intéressant, et Madagascar ! cette belle colonie, victime récente d'une exploitation européenne intensive. Elle nous révèle qu'elle a subi en outre une modification profonde de son sol naguère forestier. Le sol est devenu stérile, avec l'aspect et la couleur de la brique ; il s'est durci ; il est latéritique. J'expliquerai plus loin en quoi consiste cette transformation irréversible.

En Amériques Centrale et Méridionale

Le cas du pays des Aztèques, des Mayas et des Incas est moins connu peut-être. Pourtant, il faut insister sur le fait que le standart agricole très élevé de ces populations a frappé tous ceux qui ont étudié les acquisitions de l'agriculture précolombienne parmi lesquelles le Tabac, la Pomme de terre, la Tomate et par dessus tout le Maïs, dont la sélection avait déjà été poussée par elles aussi loin que possible. Ai-je besoin d'insister sur le fait que

(Photo Aerial Explorations).

Fig. 25. — Ruines d'un gigantesque système d'irrigation dans la vallée du Pixo, montrant l'existence d'un ancien centre d'agriculture, même avant l'arrivée des Incas. (Dans Nat. Geog. Magazine).

les vastes champs abandonnés à la suite de la conquête espagnole ne se sont pas recouverts, comme c'eût été normal dans ces climats équatoriaux et tropicaux, de végétation forestière luxuriante. Le faciès des brousses ou des déserts à plantes grasses que l'on a vu s'y installer et que nous y trouvons encore aujourd'hui est une indication extrêmement nette d'un état de dégradation du sol et du climat local. Et, en effet, la prise de vues aériennes permet de distinguer sur le terrain aujourd'hui des détails d'irrigation, de champs en terrasses, etc... qui ne sont pas discernables du sol (fig. 25).

III. — INFLUENCE DU DEFRICHEMENT

Régression de la végétation naturelle

En vérité, partout, de nos jours comme autrefois, depuis des milliers d'années, le défrichement grignote l'immense domaine forestier du globe et installe, à la place des cultures qui ont dû être abandonnées au bout d'un certain temps parce qu'elles devenaient improductives, des groupements végétaux en régression sur un sol devenu sénile, c'est-à-dire désorganisé et infertile, sous un climat évoluant, par voie de conséquence, vers l'aridité.

Les étapes intermédiaires, marquant les phases de cette régression, s'aperçoivent un peu partout et je me rappelle combien elles étaient saisissantes en 1931 sur le vaste plateau forestier du lac Toba à Sumatra et en 1923 sur les régions de l'est brésilien, deux régions qui, de mémoire d'homme, ont pris l'aspect de brousses arides, que les incendies embrasent jusqu'au bord des forêts en recul.

Ces défrichements abandonnés ont d'abord été, comme partout en régions intertropicales, colonisés par des végétations de « *forêts secondaires* », d'un autre type que celui des forêts vierges et qui ne sont intéressantes, ni au point de vue scientifique, ni au point de vue économique ; ces forêts sont rapidement en régression dès qu'elles subissent l'accident à peu près annuel du feu. Ajoutons que les entreprises européennes ont en peu d'années contribué largement à diminuer la surface des forêts vierges équatoriales. Elles font place à des formations ouvertes du type des savanes plus ou moins arborées, puis du type des brousses ou des steppes dans lesquelles aussi bien le feu que l'excès de pâture par le gibier herbivore ou les moutons appauvrissent la flore (fig. 26).

Des altérations profondes se produisent ensuite dans le sol.

(Photo Keystone-Underwood).

Fig. 26. — Des myriades de chèvres et de moutons annihilent par excès de pâture ce qui reste des végétations herbacées des steppes. Pour sauver de la régression du fourrage et du dénudement du sol les territoires de la Réserve des Navajos aux Etats-Unis, on a, dernièrement, ordonné la vente de 148.000 chèvres et de 133.000 moutons. (Dans Nation. Geog. Magazine).

Sénilité du sol

En quoi consiste le vieillissement des sols arables et leur stérilisation ? Il s'agit d'une rupture d'équilibre dans leurs éléments constitutifs, rupture déclanchée par la suppression d'une couverture végétale stable. En effet, un sol couvert de forêts ne devient pas sénile, car il récupère automatiquement par les feuilles tombées et les cadavres d'animaux en voie de décomposition les substances qui d'une part sont indispensables au maintien de sa composition et d'autre part sont nécessaires à l'entretien de la végétation. Le défrichement supprime toute restitution automatique et abondante de ces matériaux. La culture, telle qu'elle fut pratiquée depuis la période prénéolithique jusque bien près de notre époque, enlève à chaque récolte ce que les plantes ont absorbé. Evidemment les engrais arrêtent ou ralentissent le phénomène dans la mesure où ils sont scientifiquement distribués, mais leur emploi n'est à peine généralisé qu'en Europe et en Amérique ; tandis

que dans toutes les régions intertropicales, les indigènes continuent à détruire les forêts pour leurs cultures vivrières.

Il en résulte que les emplacements sont abandonnés dès que le sol est épuisé. L'on met ainsi à profit de proche en proche la fertilité temporaire des humus vierges, et l'on garde malgré tout l'habitude de mettre le feu aux végétations secondaires et aux brousses, laissant échapper dans la fumée, en pure perte, le capital d'azote fixé par des générations de plantes (1). La richesse de la flore en est diminuée. Dans le tapis végétal s'ouvrent des plaques de plus en plus larges de sol nu.

C'est dans ces conditions, que le sol dénudé commence à subir les diverses étapes de sa désorganisation. Pour bien comprendre ce qui se passe, je crois opportun de faire un rapprochement entre les observations que les géographes ont faites depuis longtemps et les études qui ont permis aux agronomes d'établir la nature de la constitution physico-chimique des sols arables (masses colloïdales électronégatives d'argile et d'humus, sous la forme consistante d'un hydrogel, enrobant des particules solides de sable, de paille, etc... séparées les unes des autres par de minuscules espaces remplis d'air et recouvertes chacune d'une lame liquide d'eau tenant en solution des sels minéraux.

Ce rapprochement me permet de présenter une interprétation scientifiquement satisfaisante du phénomène. Le sol mis à nu, sans protection contre le soleil et lavé par les pluies perd petit à petit les sels minéraux qu'il contient normalement. Or, c'est précisément la présence de ces électrolytes qui maintient les colloïdes argileux et humiques sous la phase d'hydrogel stable, rétenteur d'eau et fertile.

La diminution de la teneur en sels minéraux du sol produit le changement de phases des colloïdes qui passent à l'état d'hydrosol et sont entraînés facilement par la pluie.

Il en résulte une perte des colloïdes siliceux et humiques qui modifie les propriétés du sol : la faculté de garder l'eau et de se réimbiber est progressivement atténuée ; le sol se dessèche aussitôt après la pluie ; les particules solides ne sont plus agglomérées. Dans certains cas, elles deviennent, sans plus, indépendantes les unes des autres et sont soulevées en poussière par le vent au moment des périodes sèches (Chine, Sahara, Middle West Américain). Dans d'autres cas, l'évaporation rapide qui se produit

(1) Cet azote est normalement restitué au sol et transformé en nitrates par le jeu des phénomènes bactériens dans l'humus. Il permet la croissance des végétaux.

jusque dans le sous-sol fait remonter à la surface des sels de fer insolubles qui cimentent les particules sablonneuses ou pierreuses et constituent une croûte solide rougeâtre : c'est la latérite. Un sol ainsi latérisé devient incapable de porter désormais, soit une végétation abondante, soit des plantations (Madagascar, Sumatra, Afrique, Brésil).

Transformation du climat

L'insolation de ces larges surfaces de terres « *décolloïdisées* », ruinées, privées de leur végétation primitive, n'est pas sans répercussion sur la pluviosité d'un pays ; car, si les nuages se condensent aisément en passant soit au-dessus des montagnes qui leur font traverser des zones plus froides, soit au-dessus des régions densément forestières, ils disparaissent en vapeurs invisibles en traversant les colonnes d'air brûlant qui montent de ces régions.

Un climat sec prend pied avec toute une séquelle de conséquences écologiques. Il parvient à influencer ce qui reste dans le voisinage de sols intacts, de végétation et de faune indigènes. On peut donc encore trouver sous ces climats transformés [1] des sols restés fertiles, mais qui ne sont plus colonisés ni cultivables par suite du manque d'eau (Palestine, Californie, Soudan, Brésil).

*
* *

Ainsi donc, sous l'influence du défrichement, l'évolution régressive des régions autrefois forestières aboutit à la désintégration irréversible des complexes physico-chimiques du sol qui devient poussière ou latérite ou bien détermine, par l'agrandissement démesuré des surfaces dégradées, une aridité du climat telle que les sols restés encore fertiles souffrent d'un arrosage insuffisant.

---

[1] Cependant, il ne faudrait pas en conclure que toutes les brousses, savanes, etc... ont cette même origine anthropique. Il existe en effet de ces formations qui sont primitives et qui dépendent de conditions climatiques sèches dont les caractéristiques sont dues à divers facteurs qu'il serait trop long de préciser ici, facteurs du type de celui que j'ai signalé dans la très large vallée de l'Amazone : présence de colline ou montagnes faisant obstacle à des vents alizés continus dans une même direction pendant toute l'année. Il y a de fortes précipitations de pluie sur le versant qui fait face au vent et qui est couvert de forêts ; il pleut beaucoup moins derrière la montagne où l'on trouve des végétations basses de savanes et de brousses de type semi-aride.

CONCLUSIONS

Les divers exemples que j'ai choisis dans notre pays et à l'étranger, ont montré l'instabilité des équilibres naturels. Qu'il s'agisse d'un boisement, comme dans les fagnes, ou d'un déboisement, comme dans trop de régions. Peu importe ! Ce qui compte, c'est le fait que l'on provoque une rupture dans ces équilibres qui sont toujours complexes. La rupture la plus grave parce que généralisée est celle qui est provoquée par le défrichement. C'est la manière dont les générations d'hommes ont traité le sol qui a eu pour résultat de remplacer le domaine forestier mondial par un ensemble de végétations xérophytiques et clairsemées, établies sur sol en voie de stérilisation.

Les conditions subdésertiques et désertiques qui s'installent empêchent le retour des faciès originaux.

En somme, les vastes espaces de savanes, brousses ou steppes sont très généralement l'aboutissement des interactions séculaires entre l'homme, la végétation, le climat, dans lesquels l'homme invariablement intervient par le défrichement, la culture, la pâture et le feu.

Comme Van Steenis le dit très bien ([14]), l'ultime effet de l'influence des hommes est l'installation du désert sous n'importe quel climat.

On ne s'étonnera donc plus de constater que les archéologues découvrent les restes d'anciennes populations très denses et prospères précisément dans ces zones où aujourd'hui prévalent les conditions semi-arides ou désertiques. Comme les causes actuelles, évidentes aujourd'hui, ont dû jouer autrefois, peut-être avec plus de lenteur mais avec le même caractère, il n'est plus nécessaire de se demander pourquoi ces civilisations ont disparu, pourquoi les champs fertiles qu'elles entretenaient ont été abandonnés, pourquoi elles ont dû passer le flambeau ?

Un proverbe arabe n'a-t-il pas dit : « La forêt précède l'homme, le désert le suit » !

Et si l'on comprend, à la suite de cet exposé, combien l'étude des problèmes de la protection de la Nature est importante pour les sociétés humaines, je me féliciterai grandement.

(*Institut Botanique de l'Université de Liége*).
(*Laboratoire de Phytogéographie*).

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

(1) R. Bouillenne. — Le futur Parc National des Hautes Fagnes. *Revue Hautes-Fagnes*, 1938.

Deuxième édition sous le titre : Parcs Nationaux, réserve de beauté et de nature sauvage. Plumhans, Verviers, 1942.

(2) R. Bouillenne. — Evolution récente de la végétation des Hautes-Fagnes du plateau de la Baraque Michel. *Bulletin de la Société Royale de Botanique de Belgique*, t. LVIII, fasc. 2, 1926.

(3) Les eaux des tourbières du plateau de la Baraque Michel. *Annales de la Société Géologique de Belgique*, t. LVII, n° 5, février 1934.

(4) R. et M. Bouillenne. — Contribution à la phytogéographie des Hautes-Fagnes en Belgique, *Bulletin de la Société Royale de Botanique de Belgique*, t. LXVIII, n° 1, 1935.

(5) M. Schwickerath. — Wälder und Waldboden des Hohen Venns und seiner Randgebiete. *Mitteilungen aus Forstwirtschaft und Forstwissenschaft*, Verlag M. et H. Schaper, 1938.

(6) M. Boudru. — La réserve naturelle dans les Hautes-Fagnes de Belgique. *Bulletin de la Société Centrale Forestière de Belgique*, 44e année, nos 4-5, avril-mai, pp. 151-200, 1937.

(7) H. Karsten. — Untersuch. über die Warmeleitungsfähigkeit einiger Bodenarten. *Inter. Mitt. f. Bodenk.*, 1, 524, 1911.

(8) R. Geiger. — Das Klima der bodennahen Lufstchicht. Braunschweig, 1937.

(9) F. Firbas. — Untersuchungen über den Wasserhaushalt der Hochmoorpflanzen. *Pringsheims Jahrb.*, 74, 459, 1931.

(10) R. et M. Bouillenne et P. Prévot. — Une association végétale à « Empetrum » dans les fagnes de Clefay. *Bull. Acad. R. Belg.*, Cl. Sc., 5e série, XVII, 4, pp. 570-577, 1931.

(11) L. Tinbergen. — Observations sur l'évaporation de la végétation d'une tourbière dans les Hautes-Fagnes de Belgique. *Mémoires Soc. Roy. Sc. Liége*, 4e série, 4, 1940.

(12) Aug. Chevalier. — L'Agriculture Coloniale. Presses universitaires de France, 1942.

(13) E. de Laveleye. — Essai sur l'Economie Rurale de la Belgique. Paris, 1875.

(14) Van Steenis C. G. G. J. — Cycles of drought and reforestation in the U. S. A. seen in the light of the new botanical hypothesis of deserts in general. *Bulletin du Jardin Botanique de Buitenzorg*, série III, vol. XIV, n° 1, pp. 50-55, décembre 1936.

(15) H. Walter. — Ist die Prärie von Natur aus Baumlos? *Geographischen Zeitschrift*, 41 Jahrgang Heft 1, pp. 16-26, 1935.

(16) Die Vegetationsverhältnisse in der Namib-Nebelwüste (Deutsch Südwestafrica). *Forschungen und Fortschritte*, 12 Jahrgang, nos 23-24, pp. 293-294, 10-20 August, 1936.

(17) G. Le Fèvre. — La Croisière Jaune. IIIe Mission G. M. Haardt. L. Audouin-Dubreuil. *Expédition Citroën Centre-Asie*, Plon, Paris, 1933.

(18) C. R. intéressants dans *The Nat. Geogr. Magazine américain* de 1925 à 1940. Washington.